



Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition via Activation of Epidermal Growth Factor Receptor Contributes to Sunitinib Resistance in Human Renal Cell Carcinoma Cell Lines

Mizumoto, Atsushi

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2016-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6678号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006678>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



学位論文の内容要旨

Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition via Activation of Epidermal Growth Factor Receptor Contributes to Sunitinib Resistance in Human Renal Cell Carcinoma Cell Lines

ヒト腎癌細胞株のスニチニブ耐性に対する EGFR 受容体の活性化を介した
上皮間葉転換誘導の寄与

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
薬物動態学
(指導教員：平井 みどり 教授)

水本 篤志

【要旨】

本邦における腎細胞癌の罹患者数は 1 万人を超えており、死亡者数も経年的に増加している。スニチニブは転移性腎細胞癌(mRCC)の一次治療に使用される有効性の高い薬剤である一方で、日本人における奏効率は約 50%、無増悪生存期間は 11 ヶ月程度であり、薬剤不応性および耐性の潜在が課題となっているが、その分子生物学的メカニズムは明らかにされていない。上皮間葉転換(EMT)の誘導は化学療法に対する抵抗性のメカニズムの一つとして挙げられる。この EMT 関連因子の発現変動と抗癌剤に対する感受性が相関する可能性も示唆されている。本研究では、mRCC 細胞株におけるスニチニブの不応性メカニズムを EMT 制御機構に着目して検討した。

検討には 3 種のヒト RCC 細胞株 (786-O, ACHN および Caki-1 細胞)を用いた。また、スニチニブを長期的に曝露することで耐性を獲得した Caki-1/SN 細胞を樹立し、併せて検討に用いた。スニチニブの増殖抑制作用は WST-8 法により評価し、EMT 関連タンパク質およびシグナル伝達に及ぼすスニチニブの影響を Western blot 法および免疫染色法により評価した。

786-O 細胞は ACHN 細胞および Caki-1 細胞と比較してスニチニブによる細胞増殖抑制作用が顕著に低かった。Caki-1/SN 細胞においても Caki-1 細胞と比較すると、スニチニブによる細胞増殖抑制作用に対し抵抗性を示すことを確認した。また、786-O 細胞においては、スニチニブの曝露により EGFR (Tyr1068)のリン酸化の亢進を認め、これに伴い、Erk のリン酸化亢進、 β -catenin の核内移行ならびに間葉系マーカー(Fibronectin、Vimentin)の発現亢進を確認した。Caki-1/SN 細胞においてもスニチニブの曝露により、786-O 細胞と同様の挙動を示した。さらに、選択的 EGFR 阻害薬であるエルロチニブを共存させることにより、786-O 細胞および Caki-1/SN に対するスニチニブの細胞増殖抑制作用は増大した。同様に、スニチニブによる EGFR、Erk の活性化および間葉系マーカーの発現亢進がエルロチニブによって抑制されることを確認した。

以上の結果より、RCCにおけるEGFRの活性化がスニチニブの不応性・耐性に大きく寄与していることが示唆された。EGFR活性化細胞の特定によりスニチニブの治療効果を予測し、さらに、EGFRの活性を阻害することによりスニチニブによるRCCの治療成績の向上につながる重要な基礎的知見になると考えられる。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2580号	氏 名	水本 篤志
論文題目 Title of Dissertation	Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition via Activation of Epidermal Growth Factor Receptor Contributes to Sunitinib Resistance in Human Renal Cell Carcinoma Cell Lines ヒト腎癌細胞株のスニチニブ耐性に対する EGFR 受容体の活性化を介した上皮間葉転換誘導の寄与		
審査委員 Examiner	主 査 匂坂 敏朗 Chief Examiner 副 査 阿部 正人 Vice-examiner 副 査 青井 貴之 Vice-examiner		

(要旨は1,000字~2,000字程度)

【背景】

本邦における腎細胞癌の罹患者数は1万人を超えており、死亡者数も経年的に増加している。スニチニブは転移性腎細胞癌(mRCC)の一次治療に使用される有効性の高い薬剤である一方で、日本人における奏効率は約50%、無増悪生存期間は11ヶ月程度であり、薬剤不応性および耐性の潜在が課題となっているが、その分子生物学的メカニズムは明らかにされていない。上皮間葉転換(EMT)の誘導は化学療法に対する抵抗性のメカニズムの一つとして挙げられる。この EMT 関連因子の発現変動と抗癌剤に対する感受性が相関する可能性も示唆されている。

【目的】

EMT に着目して、mRCC におけるスニチニブの不応性メカニズムを明らかにする。

【方法・結果】

3種のヒトRCC細胞株(786-0, ACHN および Caki-1 細胞)を用いた。また、スニチニブを長期的に曝露することで耐性を獲得した Caki-1/SN 細胞を樹立し、併せて検討に用いた。スニチニブの増殖抑制作用は WST-8 法により評価し、EMT 関連タンパク質およびシグナル伝達に及ぼすスニチニブの影響を Western blot 法および免疫染色法により評価した。

786-0 細胞は ACHN 細胞および Caki-1 細胞と比較してスニチニブによる細胞増殖抑制作用が顕著に低かった。Caki-1/SN 細胞においても Caki-1 細胞と比較すると、スニチニブによる細胞増殖抑制作用に対し抵抗性を示すことを確認した。また、786-0 細胞においては、スニチニブの曝露により EGFR (Tyr1068) のリン酸化の亢進を認め、これに伴い、Erk のリン酸化亢進、β-catenin の核内移行ならびに間葉系マーカー(Fibronectin, Vimentin)の発現亢進を確認した。Caki-1/SN 細胞においてもスニチニブの曝露により、786-0 細胞と同様の挙動を示した。さらに、選択的 EGFR 阻害薬であるエルロチニブを共存させることにより、786-0 細胞および Caki-1/SN に対するスニチニブの細胞増殖抑制作用は増大した。同様に、スニチニブによる EGFR、Erk の活性化および間葉系マーカーの発現亢進がエルロチニブによって抑制されることを確認した。

【結語】

本研究により、mRCCにおけるEGFRの活性化がスニチニブの応答性・耐性に大きく寄与していることが示唆された。EGFR活性化細胞の特定によりスニチニブの治療効果を予測し、さらに、EGFRの活性を阻害することによりスニチニブによるmRCCの治療成績の向上につながる重要な基礎的知見になると考えられる。

本研究は、これまで不明であった mRCC におけるスニチニブの応答性メカニズムを明らかにし、抗がん剤耐性における重要な知見を得たものとして価値ある研究であると認める。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。