

氏名(生年月日) やまもと かず ひろ  
山本 和宏 (1984年5月11日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 論博 第204号

学位授与の日付 2016年9月30日

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学位論文題目 マルチキナーゼ阻害薬による皮膚障害発症機序の解明と個別化治療に関する研究

論文審査委員 (主査) 教授 西口 工司

(副査) 教授 栄田 敏之

(副査) 教授 芦原 英司

## 論文内容の要旨

分子標的治療薬は、がん細胞に特異的な標的に対して作用する薬剤であることから、発売当初は高い安全性が利点とされていた。しかしながら、臨床応用が進むに伴い、治療継続に影響を及ぼす重大かつ特有の副作用が認められてきた。なかでも皮膚障害は多くの分子標的治療薬に共通して高頻度に発症し、治療の中断や患者のQOLを低下させる要因となっている。特にマルチキナーゼ阻害薬(mTKI)に起因する皮膚障害は、手足皮膚反応(HFSR)とも呼ばれ、細胞障害性抗癌剤に起因する皮膚障害とは明確に区別されており、特有の病理像を示す。特筆すべき点は、mTKIに起因する皮膚障害とその治療効果との間に関連性が報告されている点である。つまり、mTKIの皮膚障害は、抗腫瘍作用と共通の分子メカニズムにより発症する可能性が考えられる。このように臨床上重要な副作用であることは認識されつつあるにも関わらず、その発症および抗腫瘍作用に関する詳細なメカニズムは未だ解明されていない。

一方、皮膚の恒常性を維持する因子としてJanus kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription(STAT)経路が知られている。近年、乾癬やアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患では、表皮角化細胞のSTAT3活性の関与が明らかにされ、STAT3が皮膚組織における恒常性維持に重要な役割を担っていることが認識されてきた。また、STAT3は、様々な成長因子からのシグナルを集束する下流因子であることから、これらを標的とする既存の分子標的治療薬がSTAT3の活性に影響を及ぼすことは自明である。従って、mTKIによる皮膚障害にSTAT3の活性変動が関与する可能性は高い。

そこで本研究では、mTKIによる皮膚障害の発症メカニズム解明と発症のリスク因子および治療効果に関連する因子を明らかにすることを目的として、STAT3活性変動に着目し、表皮角化細胞を用いた*in vitro*での検討に加えて臨床研究を実施し、以下の知見を得た。

### 第1章 マルチキナーゼ阻害薬によるヒト表皮角化細胞のSTAT3シグナル経路に及ぼす影響

mTKIであるソラフェニブおよびスニチニブのヒト表皮角化細胞株(HaCaT細胞)に対する増殖抑制作用は、STAT3阻害剤であるStatticを処置することで顕著に増大し、STAT3の恒常活性体であるSTAT3Cの遺伝子導入は、ソラフェニブおよびスニチニブのHaCaT細胞に対する増殖抑制作用を減弱させた。ヒト腎細胞がん由来細胞株(Caki-1細胞)においても同様の結果が認められたものの、ヒト肝細胞がん由来細胞株

(HepG2細胞) では認められず、細胞種に特異的な作用である可能性が示された。また、mTKIによるアポトーシス誘導作用は、STAT3の活性低下を介したsurvivin、B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) などのアポトーシス抑制因子の発現低下に起因する可能性を示した。さらに、ソラフェニブおよびスニチニブによるSTAT3の活性阻害は間接的であり、ソラフェニブではextracellular signal- regulated kinase (ERK) およびp38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) による負の制御を介しているとともに、各MAPK阻害剤の前処置により細胞毒性が减弱することを示した。スニチニブにおいては、p38 MAPKを介してSTAT3を阻害することにより増殖抑制作用を示すことを明らかにした。従って、ヒト表皮角化細胞に対するmTKIの増殖抑制作用は、STAT3の活性阻害を介したアポトーシス抑制因子の発現低下に起因すること並びにERKおよびp38 MAPKを介したSTAT3の活性阻害がmTKIによる皮膚障害のメカニズムに寄与する可能性を見いだした。

## 第2章 STAT3遺伝子多型と転移性腎細胞がん患者におけるマルチキナーゼ阻害薬による手足皮膚反応との関連性

mTKIによる1次治療の経験を有する転移性腎細胞がん患者60例を対象として、mTKI開始後4ヵ月間のHFSRの発症をレトロスペクティブに評価するとともに、STAT3遺伝子多型との関連性について検討した。HFSR発症群(46例)および非発症群(14例)においては日本人で高頻度に変異が認められるSTAT3の遺伝子多型rs4796793の遺伝子型の分布が顕著に異なることが示された( $P=0.002$ , trend test)。また、HFSR発症と時間推移を Kaplan-Meier 解析したところ、HFSRの発症はG/G保有患者群と比較してG/CおよびC/C保有患者群において顕著に高いことが認められた( $p=0.009$ , log-rank test)。rs4796793は、遺伝子型によりSTAT3 mRNA発現量が異なることが報告されており、STAT3 mRNA発現量が比較的低いCアレルを有する患者においてHFSRの発症リスクが高いものと考えられた。なお、HFSRの重症度と、rs4796793の遺伝子型に関連性は認められなかった。従って、STAT3遺伝子多型であるrs4796793はHFSRの発症と関連し、HFSR発症のリスク因子となる可能性が明らかとなった。

## 第3章 STAT3遺伝子多型と転移性腎細胞がん患者における治療効果との関連性

第1章で腎がん細胞に対するmTKIの増殖抑制作用についてもSTAT3の活性阻害を介する可能性を明らかにしたため、この知見を基にSTAT3遺伝子多型とmTKIの治療効果との関連性について評価した。1次治療においてmTKIを使用した50名の腎細胞がん患者において、mTKI治療の最良総合効果に基づく奏効群(17例)および非奏効群(33例)では、STAT3遺伝子多型であるrs4796793の遺伝子型の分布が異なる傾向を示すことを明らかにした( $P=0.057$ )。また、STAT3遺伝子多型以外の患者背景は、最良総合効果と関連性を示さなかった。rs4796793の遺伝子型C/Cの患者群とG/CおよびG/Gの患者群では、PFS、TTFにおいて顕著な差は認めなかったものの(PFS; $p=0.599$ , TTF; $p=0.683$ , log-rank test)、TTRにおいては有意な差を認めた( $p=0.021$ , log-rank test)。腎がん細胞におけるSTAT3の活性が化学療法感受性と負に相関することやSTAT3が抗腫瘍免疫応答を制御することが報告されていることから、STAT3 mRNA発現量が比較的低い遺伝子型の患者におけるmTKIの治療効果は高い可能性が示された。従って、腎細胞がん患者におけるSTAT3遺伝子多型とmTKIによる治療効果との関連性を見いだすことができた。

本研究では、分子標的治療薬による皮膚障害の発症メカニズムと皮膚障害のリスク因子および治療効果に関連する因子の解明を目的として、STAT3の活性変動に着目した検討を実施した。その結果、mTKIのヒト表皮角化細胞に対する増殖抑制作用に、STAT3の活性阻害を介したアポトーシス抑制因子の発現減少が寄与することを見いだした。また、転移性腎細胞がん患者を対象とした臨床研究では、STAT3遺伝子多型であるrs4796793の遺伝子型分布がHFSR発症群と非発症群で異なり、STAT3 mRNA発現量が比較的低い遺伝

子型を有する患者が発症群に多いことを見出し、さらに、治療効果においても *STAT3* mRNA 発現量が低い遺伝子型を有する患者が、最良総合効果に基づく奏効群に多いことを明らかにした。したがって、本研究結果は、*STAT3* が HFSR の発症や抗腫瘍作用のメカニズムに重要な役割を果たすことを明らかにするのみならず、HFSR の事前予測や治療効果の予測において重要な知見になり、mTKI 治療において患者ごとに至適用量を規定することによる個別化治療の実現に繋がるものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

分子標的治療薬による皮膚障害は、治療の中断や患者の QOL を低下させる要因となっている。マルチキナーゼ阻害薬 (mTKI) に起因する皮膚障害は、その治療効果との間に関連性が報告されており、抗腫瘍作用と共通の分子メカニズムにより発症する可能性が考えられるが、その発症および抗腫瘍作用に関する詳細なメカニズムは未だ解明されていない。一方、皮膚の恒常性を維持する因子として Janus kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) 経路が知られている。既存の分子標的治療薬は *STAT3* の活性に影響を及ぼすことが自明であり、mTKI による皮膚障害に *STAT3* の活性変動が関与する可能性は高い。そこで申請者は、mTKI による皮膚障害に関する発症メカニズムの解明とリスク因子ならびに治療効果に関連する因子を明らかにする目的で、*STAT3* 活性変動に着目し、表皮角化細胞を用いた *in vitro* での検討に加えて臨床研究を実施した。

第1章では、マルチキナーゼ阻害薬によるヒト表皮角化細胞の *STAT3* シグナル経路に及ぼす影響について検討された。mTKI であるソラフェニブおよびスニチニブのヒト表皮角化細胞株 (HaCaT 細胞) に対する増殖抑制作用は、*STAT3* 阻害剤である Stattic を処置することで顕著に増大し、*STAT3* の恒常活性体である *STAT3C* の遺伝子導入は、ソラフェニブおよびスニチニブの HaCaT 細胞に対する増殖抑制作用を減弱させた。一方で、ヒト腎細胞がん由来細胞株 (Caki-1 細胞) においても同様の結果が認められたものの、ヒト肝細胞がん由来細胞株 (HepG2 細胞) では認められなかった。従って、*STAT3* の活性阻害が mTKI による皮膚障害発症メカニズムに寄与する可能性が明らかにされた。

第2章では、mTKI による治療の経験を有する転移性腎細胞がん患者60例を対象として、mTKI 開始後4ヵ月間の HFSR の発症をレトロスペクティブに評価するとともに、*STAT3* 遺伝子多型との関連性について検討された。その結果、HFSR 発症群および非発症群においては、*STAT3* の遺伝子多型である rs4796793 の分布が顕著に異なることが示され、rs4796793 は HFSR の発症と関連し、HFSR 発症のリスク因子となる可能性が見出された。

第3章では、*STAT3* 遺伝子多型と転移性腎細胞がん患者における治療効果との関連性について検討された。第1章での知見を基に *STAT3* 遺伝子多型と mTKI の治療効果との関連性について評価された。1次治療において mTKI を使用した 50 名の腎細胞がん患者において、mTKI 治療の最良総合効果に基づく奏効群および非奏効群では、rs4796793 の分布が異なる傾向を示すことが明らかにされた。従って、腎細胞がん患者における *STAT3* 遺伝子多型と mTKI による治療効果との関連性が示された。

以上、本研究成果は、mTKI 治療による HFSR の事前予測や治療効果の予測において重要な知見となり、個別化治療として患者ごとの至適用量を規定するために有用な情報を提供するものである。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士 (薬学) の学位論文としての価値を有するものと判断する。