

令和元年6月20日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20146

研究課題名(和文)腎癌血清で減少する糖蛋白の生物学的役割と臨床的意義

研究課題名(英文)Biological Role and Clinical Significance of Decreased Glycoprotein in Renal Cancer Serum

研究代表者

仲西 昌太郎(Nakanishi, Shotaro)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：40725321

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：画像診断技術の進歩や人間ドック等のスクリーニング機会の増加とともに腎癌の発見頻度は増加している。しかし、それらの中の25-30%は発見時すでに転移を来した進行癌で発見される。そのため、腎癌血清バイオマーカーの探索は、腎癌の早期発見ひいては腎癌の予後改善に必須の課題である。そこで、本研究では、RCC-GP1を用いて腎癌患者血清におけるその濃度を調べ、バイオマーカーとしての可能性について探索した。血清RCC-GP1はccRCC患者血清中でnon-ccRCCおよびnon cancer patientsと比較して有意に上昇しており、血清バイオマーカーになる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

画像診断技術の進歩や人間ドック等のスクリーニング機会の増加とともに腎癌の発見頻度は増加している。しかし、それらの中の25-30%は発見時すでに転移を来した進行癌で発見される。そのため、腎癌血清バイオマーカーの探索は、腎癌の早期発見ひいては腎癌の予後改善に必須の課題である。そこで、本研究では、RCC-GP1を用いて腎癌患者血清におけるその濃度を調べ、バイオマーカーとしての可能性について探索した。血清RCC-GP1はccRCC患者血清中でnon-ccRCCおよびnon cancer patientsと比較して有意に上昇しており、血清バイオマーカーになる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The frequency of discovery of renal cancer is increasing, because of advances in diagnostic imaging techniques and an increase in screening opportunities. However, 25-30% of them are found in advanced cancers that have already metastasized at the time of discovery. Therefore, the search for renal cancer serum biomarkers is an essential task for early detection of renal cancer and that is improving the prognosis of renal cancer. Therefore, in this study, RCC-GP1 was used to examine its concentration in the serum of renal cancer patients and to explore its potential as a biomarker. Serum RCC-GP1 was significantly elevated in ccRCC patient sera compared to non-cc RCC and non cancer patients, suggesting the possibility of becoming a serum biomarker.

研究分野：泌尿器科 腎癌

キーワード：腎癌 血清バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの解析から、申請者は腎癌症例の多くでシアル酸転移酵素の発現が亢進することを見出した。このシアル酸転移酵素は、分泌型糖蛋白上にも発現可能なシアル酸の結合した糖鎖を合成するため、シアル酸を持つ糖蛋白が腎癌の血清マーカーになると考えられる。

そこで申請者は、血清マーカーの探索過程で見出した、シアロ糖蛋白 RCC-GP1 (仮称) に着目した。解析の結果、淡明腎細胞癌患者では、このシアロ糖蛋白 RCC-GP1 の血清蛋白量レベルが、健常人と比較して低下していた (図 1)。さらにこの糖蛋白 RCC-GP1 は、血清中の分子量 45 kDa と比較して腎癌細胞内では 38 kDa と低下していた (図 2)。45 kDa の分子量は、グリコシダーゼ処理により低下したことから、付加糖鎖の違いによるものであることも明らかにしている。

近年の報告から、糖鎖には細胞接着機能や細胞のシグナル伝達を制御する機能、糖蛋白の標的組織への移行など、機能性をもつことが明らかになりつつある。さらに、癌の増殖や転移にも関わっていることが報告され、新たな腫瘍マーカーとしても注目されている。今回発見した糖蛋白 RCC-GP1 は癌患者の血清で低下していたこと、血清中では癌細胞内と比較して糖鎖がより多く付加していたことから、血清中の RCC-GP1 が腎癌細胞内に取り込まれ、

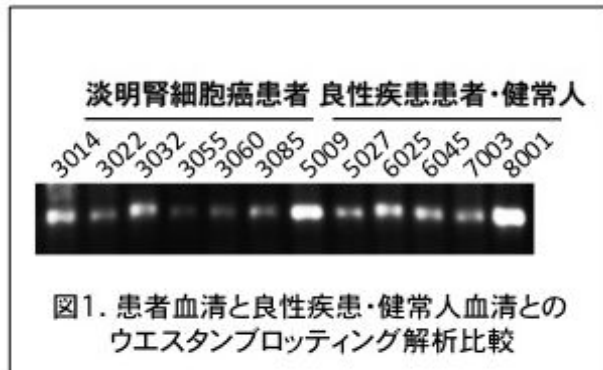


図1. 患者血清と良性疾患・健常人血清とのウエスタンブロッティング解析比較

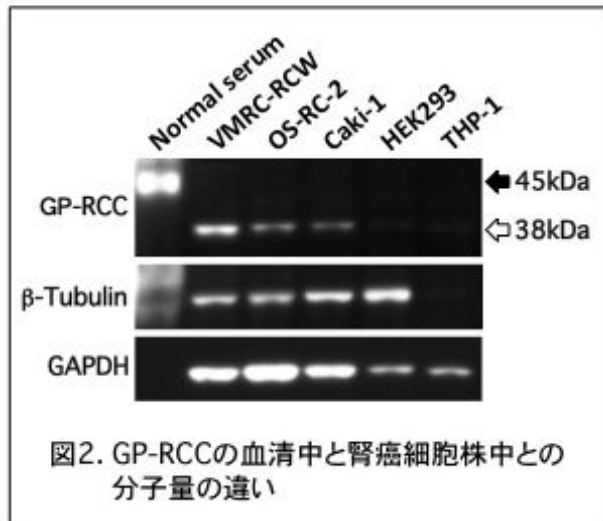


図2. GP-RCCの血清中と腎癌細胞株中との分子量の違い

RCC-GP1 自体あるいはその糖鎖が癌の増殖や悪性進展に関与している可能性がある。

そこで申請者は、これまでの研究成果を更に発展させ、RCC-GP1 糖蛋白が腎癌患者血清で減少する機序 (腎癌細胞に取り込まれる可能性など) RCC-GP1 あるいはその糖鎖の機能を解明することで、当該糖蛋白と癌の増殖・悪性進展との関連性が明らかになれば、その臨床病理学的解析から診断補助としての有用性が検証できると考えた。腎癌細胞内と血清中とで糖鎖が異なる糖蛋白の機能解析から、糖鎖によって活性化されるシグナル分子とその経路が明らかとなり、当該糖鎖やそのシグナル分子は新たな治療標的となり得る。

2. 研究の目的

申請者が腎癌の血清マーカーを探索する過程で見いだした血清 RCC-GP1 (仮称) は、健常成人のそれと比較して蛋白量が減少する一方、血清中での RCC-GP1 の存在様式は腎癌細胞内のそれよりもさらに糖鎖が多く付加された形であった。これを説明する作業仮説として、血清 RCC-GP1 は腎癌細胞内に取り込まれ、RCC-GP1 もしくはその糖鎖が癌細胞の悪性形質に影響を与える可能性を考えた。そこで、本研究は血清 RCC-GP1 の糖鎖構造を解析し、糖鎖の有無によって影響を受ける細胞内シグナルの解明と、腎癌の増殖・浸潤に関わる糖鎖構造の同定を目的とする。更に、RCC-GP1 糖鎖の診断標的としての有用性を明らかにすると共に、治療標的としての阻害効果を検討する。

3. 研究の方法

RCC-GP1 が腎癌患者血清で低下する機序および RCC-GP1 の糖鎖と悪性形質との関連を明らかにする。

- 1) 血清 RCC-GP1 レベルと腎癌の存在診断能力、病勢、予後、病理診断との関連性を調査する。
- 2) 腎細胞癌患者において血清 RCC-GP1 レベルが低下するメカニズムを明らかにする。
- 3) 血清中で付加されている RCC-GP1 の糖鎖構造と糖鎖機能を解析し、さらに、この糖鎖が持つ細胞内活性・機能を解析し、癌細胞における糖鎖の作用機序を明らかにする。この糖鎖によって制御・活性化される癌のシグナル経路を明らかにし、その機構を標的とした

診断および治療応用の有用性を評価する。

4. 研究成果

血清中の RCC-GP1 濃度は ccRCC 患者において、non-ccRCC、non cancer patients 群より有意に高かった。ccRCC 患者の臨床データとの相関を検討すると、多変量解析で CRP および Hb 値が独立した因子であった。

免疫組織学的検討では、ccRCC 症例の 47%で、また non-ccRCC の 50%で RCC-GP1 が陽性となった。

Cell line での検討では、RCC-GP1 の RNA、蛋白レベルでの発現を確認した。しかし、培養上清中では同定出来なかった。

AUC の値であるが、ccRCC と non-cancer では 0.740、一方 ccRCC と non-ccRCC では 0.9141 であった。

5. 主な発表論文等

論文作成中である。

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

仲西 昌太郎 「RCC-GP1 ~ 腎癌血清マーカーの可能性について ~」
第 106 回日本泌尿器科学会総会 (2018 年)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：斎藤 誠一

ローマ字氏名：Saito Seiichi

所属研究機関名：琉球大学

部局名：大学院医学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：80235043

研究分担者氏名：須田 哲司
ローマ字氏名：Suda Tetsuji
所属研究機関名：琉球大学
部局名：大学院医学研究科
職名：助教
研究者番号（8桁）：40423347

(2)研究協力者

研究協力者氏名：須川 愛
ローマ字氏名：Sugawa Ai

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。