

平成21年 6月 1日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591853
 研究課題名（和文） 遺伝子多型が腫瘍の進展・予後および腫瘍細胞の癌関連遺伝子変化に及ぼす影響
 研究課題名（英文） Impacts of genetic polymorphisms on tumor progression and prognosis in patients with urological cancers
 研究代表者
 坂野 滋 (SAKANO SHIGERU)
 山口大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：60363107

研究成果の概要：腎癌患者において、DNA 修復遺伝子型と腫瘍の進展度または生存率との間に相関が認められた。上部尿路癌患者においては、DNA 修復遺伝子多型は病期および病理学的悪性度を凌駕する独立した予後予測因子であることが示された。また、XPC 遺伝子型は膀胱癌患者に対する化学放射線療法における毒性の発生を予測する因子として有用であった。これら遺伝子多型の解析により治療の個人化を実現する可能性があることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：腎癌、膀胱癌、遺伝子多型、腫瘍予後

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年の分子生物学的手法の発達により、腫瘍はいくつかの癌遺伝子・癌抑制遺伝子・細胞周期関連遺伝子等の癌関連遺伝子の遺伝子変化の集積によって発生し、さらに進展することが明らかにされ、腫瘍細胞におけるこれら癌関連遺伝子変化と腫瘍の臨床的・病理学的性質および進展・予後との関係について多くの検討がなされてきた。しかしながら、腫瘍の発生・進展は腫瘍細胞周囲の正常細胞との関係にも強く依存しているとされることから (Cell. 2000;100:57-70)、宿主個々の遺伝的背景は腫瘍発生のリスクだけであ

く、腫瘍進展 (増大・浸潤・転移)・予後 (治療に対する反応・生存) にも影響を及ぼすことが予想される (Cancer Lett. 2004;208:1-33; Nat Rev Cancer. 2006;6:141-146)。

(2) 宿主個々の遺伝的因子である遺伝子多型については、これまで大部分が (環境因子との関連も含めた) 腫瘍発生のリスクに関する研究で、特に代表的泌尿器癌である腎癌および膀胱癌では腫瘍の進展・予後との関連に関する研究は非常に少ない。この中でわれわれは膀胱癌の stage, grade および予後等と

CDKN2A 遺伝子多型との関連について検討・報告した (Int J Cancer. 2003;104:98-103)。また、DNA 修復遺伝子 (XPC, XPD, XPG, XRCC1, XRCC3) 多型と膀胱癌罹患率との関係 (Carcinogenesis. 2004;25:729-734)、および XPG 遺伝子多型と表在性膀胱癌の stage, grade および予後等との関連について報告した (BJU Int. 2006;97:847-851)。さらに、抗癌化学放射線療法が施行された浸潤性膀胱癌患者において DNA 修復遺伝子多型と治療効果・予後の関係について解析・報告した (Br J Cancer. 2006;95:561-570)。

2. 研究の目的

本研究では腎癌、上部尿路癌および膀胱癌患者の癌遺伝子・癌抑制遺伝子・DNA 修復遺伝子および血管新生関連遺伝子における一般的遺伝子多型と腫瘍進展 (増大・浸潤・転移)・予後 (治療に対する反応・生存) との関連について解析することにより、患者個々の遺伝的背景が腫瘍進展・予後に与える影響を明らかにする。これによりある遺伝子多型またはいくつかの遺伝子多型の組み合わせ、もしくはハプロタイプが腫瘍の進展・治療効果・予後と密接に関連し、これらの予測因子となり、治療の個別化 (必要な患者にのみ必要な治療をする) につながることが予想される。これらの遺伝子多型が腫瘍の進展・予後に影響を及ぼすことが予想されるのは、遺伝子多型がコードするそれぞれの蛋白の発現を変化させる機能的遺伝子多型である可能性があるからである (Cancer Lett. 2004;208:1-33)。加えて、DNA 修復遺伝子多型については多型により DNA 修復能が変化し、さまざまな carcinogen が腫瘍細胞に引き起こす DNA 損傷による癌関連遺伝子変化の出現頻度が変化する可能性が考えられる。腎癌および膀胱癌細胞における癌関連遺伝子変化については非常に多くの報告があるが、どのような環境因子および遺伝的背景を持つ個々の腎癌、上部尿路癌および膀胱癌患者にどのような癌関連遺伝子変化が起こりやすいのかは未だ明らかにされていない。本研究では環境因子も含めて DNA 修復遺伝子多型が腫瘍細胞の癌関連遺伝子発現変化 (中心体過剰複製を中心に) に及ぼす影響についても解析する。

3. 研究の方法

(1) 対象: 1990 年から 2006 年の間に当科で診断された腎癌 240 症例、上部尿路癌 103 症例および抗癌化学放射線療法が施行された浸潤性膀胱癌 154 症例、合計約 500 症例。

(2) 方法: 治療前に患者より採取された末

梢血約 2 ml から DNA を抽出し、 -80°C にて凍結保存。凍結保存された DNA を用い、癌遺伝子 (MDM2)・癌抑制遺伝子 (TP53)・DNA 修復遺伝子 (XPC, XPD, XPG, XRCC1, XRCC3) 多型および血管新生関連遺伝子多型 (VEGF 2578, 1154, 634) を TaqMan genotyping assay 法、PCR-RFLP 法、もしくは ARMS-PCR 法にて検出する。腎癌および膀胱癌症例について腫瘍増大・浸潤・再発・転移・治療効果・有害事象・生存を調査し、遺伝子多型との関連を解析する。いくつかの遺伝子多型の組み合わせ、およびハプロタイプについても解析する。これらの遺伝子多型またはいくつかの遺伝子多型の組み合わせ、ハプロタイプが個々の患者の腫瘍の進展・治療に対する反応・予後の予測因子となり得るか検討する。また、中心体複製異常は免疫組織化学染色法、7, 9, 17 番染色体異常は FISH 法、RASSF1A のメチル化異常は methylation specific PCR 法にて解析する。

4. 研究成果

(1) 腎細胞癌患者 215 例について DNA 修復遺伝子多型と腫瘍の発生・進展の関係を調査した。健常人との比較において DNA 修復遺伝子多型は腎細胞癌発生の危険因子とはならないと考えられた。しかしながら、DNA 修復遺伝子多型 allele を多く持つ患者は腎細胞癌の静脈内進展の頻度が有意に低かった。また、喫煙腎細胞癌患者においてはいくつかの DNA 修復遺伝子多型と腫瘍の進展度または生存率との間に有意な相関が認められた。DNA 修復遺伝子多型のいくつかは DNA 修復能を改変することにより、とくに喫煙患者において、腎細胞癌の進展に影響を与えると考えられた。これら結果が腎細胞癌の進展のメカニズムを解明する助けとなることが示唆された。

(2) 上部尿路癌患者 103 例について 5 つの DNA 修復遺伝子多型と患者予後の関係を調査した。Xeroderma pigmentosum complementation group C 遺伝子多型 allele を有すること、調査した全ての DNA 修復遺伝子多型 allele の総数が 4 以上、および 3 つの nucleotide excision repair 遺伝子多型 allele の総数が 3 以上であることは、多変量解析において、良好な生存率と有意な相関が認められた。いくつかの DNA 修復遺伝子多型は、上部尿路癌患者において、手術前より利用可能でしかも病期および病理学的悪性度を凌駕する独立した予後予測因子であり、治療の個人化を実現する可能性があることが示唆された。

(3) 化学放射線療法が施行された浸潤性膀胱癌患者 119 例について機能を持つ DNA 修復

遺伝子多型と化学放射線療法における毒性の発生の関係を調査した。Grade 3 以上の好中球減少症は、xeroderma pigmentosum complementation group C (XPC) 遺伝子多型 (Lys939Gln) の遺伝子型が Lys/Gln もしくは Gln/Gln の患者において Lys/Lys の患者よりも有意に多く認められた。また、grade 2 以上の悪心・嘔吐は、XPC 遺伝子型が Gln/Gln の患者において Lys/Lys もしくは Lys/Gln の患者よりも有意に多く認められた。これらのことより、XPC 遺伝子型は膀胱癌患者に対する化学放射線療法における毒性の発生を予測する因子として有用であり、これにより治療の個人化を実現する可能性があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① Yoshiaki Yamamoto, Satoshi Eguchi, Akao Junpei, Kazuhiro Nagao, Shigeru Sakano, Tomoko Furuya, Atsunori Oga, Shigeto Kawauchi, Kohsuke Sasaki, Hideyasu Matsuyama: Intercellular centrosome number is correlated with the copy number of chromosomes in bladder cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*: 191: 38-42 (2009) (査読有) .
- ② Yoshiaki Yamamoto, Satoshi Eguchi, Akao Junpei, Kazuhiro Nagao, Shigeru Sakano, Tomoko Furuya, Atsunori Oga, Shigeto Kawauchi, Kohsuke Sasaki, Hideyasu Matsuyama: Cytogenetic Analysis of false-positive mucosa by photodynamic diagnosis using 5-aminolevulinic acid - possible existence of premalignant genomic alterations examined by in vitro Experiment. *Oncology*; 76: 118-125 (2009) (査読有) .
- ③ Miwa Sasaki, Shigeru Sakano, Naoko Okayama, Junpei Akao, Tomohiko Hara, Yoshihisa Kawai, Chietaka Ohmi, Yuji Hinoda, Katsusuke Naito: DNA repair gene polymorphisms may be associated with prognosis of upper urinary tract transitional cell carcinoma. *Neoplasia*; 10: 255-265 (2008) (査読有) .
- ④ Shigeru Sakano, Yuji Hinoda, Naoko Okayama, Yoshihisa Kawai, Yoshihito Korenaga, Satoshi Eguchi, Kazuhiro Nagao, Chietaka Ohmi, Katsusuke Naito: The association of DNA repair gene polymorphisms with the development and progression of renal cell carcinoma.

Annals of Oncology; 18: 1817-1827 (2007) (査読有) .

[学会発表] (計5件)

- ① 川井禎久、岡田季之、宮近義浩、三角 拓、赤尾淳平、江口 賢、長尾一公、原 貴彦、末廣 寛、坂野 滋、松山豪泰、日野田裕治、内藤克輔: RASSF1A 遺伝子のメチル化が淡明細胞型腎癌の臨床病期・予後に与える影響について。第46回日本癌治療学会総会; 2008年10月31日(名古屋市) .
- ② Shigeru Sakano, Yuji Hinoda, Naoko Okayama, Yoshihisa Kawai, Yoshihito Korenaga, Taku Misumi, Satoshi Eguchi, Tomohiko Hara, Kazuhiro Nagao, Chietaka Ohmi, Hideyasu Matsuyama, Katsusuke Naito: DNA repair gene polymorphisms and toxicity in chemoradiotherapy for bladder cancer. 第67回日本癌学会学術総会; 2008年10月29日(名古屋市) .
- ③ Shigeru Sakano, Hiroaki Matsumoto, Satoshi Eguchi, Taku Misumi, Yoshihisa Kawai, Tomohiko Hara, Kazuhiro Nagao, Chietaka Ohmi, Hideyasu Matsuyama, Katsusuke Naito: DNA repair gene polymorphisms may be associated with the progression of renal cell carcinoma. American Urological Association 2008 Annual Meeting; May 18, 2008 (Orlando, FL, USA).
- ④ Shigeru Sakano, Yuji Hinoda, Naoko Okayama, Yoshihisa Kawai, Yoshihito Korenaga, Taku Misumi, Satoshi Eguchi, Tomohiko Hara, Kazuhiro Nagao, Chietaka Ohmi, Hideyasu Matsuyama, Katsusuke Naito: DNA repair gene polymorphisms may be associated with prognosis of clear cell renal cell carcinoma. 第66回日本癌学会学術総会; 2007年10月3日(横浜市) .
- ⑤ Shigeru Sakano, Hiroaki Matsumoto, Satoshi Eguchi, Taku Misumi, Yoshihisa Kawai, Tomohiko Hara, Kazuhiro Nagao, Chietaka Ohmi, Hideyasu Matsuyama, Katsusuke Naito: DNA repair gene polymorphisms and toxicity in chemoradiotherapy for bladder cancer. 29th Congress of the Société Internationale d'Urologie; September 3rd, 2007 (Paris, France).

[図書] (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂野 滋 (SAKANO SHIGERU)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60363107

(2) 研究分担者（2007年度）

内藤克輔 (NAITO KATSUSUKE)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60115251

(3) 連携研究者 なし