

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 16 日現在

機関番号：11401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659752

研究課題名(和文)希少腎細胞癌の分子病態解析と治療標的分子候補の同定

研究課題名(英文)Molecular Analysis of Rare Renal Cell Carcinoma and Identification of Molecular Therapeutic Targets

研究代表者

羽瀧 友則 (Habuchi, Tomonori)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00293861

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：淡明細胞型、乳頭状などの一般的な病理組織型をもつ腎細胞癌の分子病態について多くの知見が得られている。一方、若年者に好発する予後不良のXp転座型腎癌の分子病態はまだまだ不明な点が多い。本研究は希少であるが若年発症のXp転座型腎癌を多施設より蒐集し、分子病態を解明すると共に、標的分子同定を試みた。

280例に対してTFE3抗体を用いて組織切片より免疫染色を行い14.3%の陽性例を見出した。TFE3遺伝子のFISH用プローブを作成、TFE3 split-FISH法を確立し、TFE3陽性例にXp11.2転座があることを確認した。さらにXp11.2転座確定例の臨床情報や様々な分子標的薬の反応性を解析した。

研究成果の概要(英文)：Molecular mechanisms of common renal cell carcinoma have been delineated by recent extensive studies. On the other hand, molecular mechanisms remain largely unknown regarding renal cell carcinoma with Xp-translocation, which is rather frequent in young patients. We tried to delineate the molecular mechanisms underlying renal cell carcinoma with Xp-translocation and to identify molecular therapeutic targets in this multi-institutional study.

By analyzing 280 patients with renal cell carcinoma, we found that 4.3% of renal cell carcinoma was immunohistologically positive for TFE3 protein. By establishing TFE3-gene FISH, we showed that most of TFE-positive tumors harbor Xp-translocation. Finally, we analyzed the clinical and pathological data of the patients with FISH-positive tumors.

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：腎細胞癌 Xp転座型腎細胞癌 TFE3 FISH 分子標的薬 紡錘型腎細胞癌

1. 研究開始当初の背景

腎細胞癌の淡明細胞型、乳頭状などの一般的な病理組織型をもつ腎細胞癌の遺伝的異常、分子病態については多くの知見が得られてきており、淡明細胞型では VEGF、mTOR 経路などを標的とする分子標的薬が臨床応用されるに至っている。いっぽう、ようやく認知されつつある若年者にしばしば見られる Xp 転座型腎癌や極めて予後不良の紡錘細胞癌(肉腫様癌)の分子病態はいまだ不明な点が多く、標的分子は未知である。

2. 研究の目的

本研究は腎癌の中でも希少であるが若年や予後不良などの特徴を有する社会的インパクトの大きい Xp 転座型、紡錘細胞癌の臨床病理データを多施設より集計し、病理病態を解明するとともに、whole ゲノムレベルの解析を進め、病態解析とともに治療標的分子同定を試みる。

3. 研究の方法

Xp 転座型に関しては多施設研究として、症例を集め、手術または生検を行った RCC の症例で組織標本が入手可能であった例に対して TFE3 抗体(Santa Cruz sc5958)を用いてパラフィン包埋された組織切片より IHC をおこない免疫染色を行い、TFE3 蛋白強発現例を抽出する。

また TFE3 遺伝子の 5' と 3' の FISH 用プローブを同定し、TFE3 split-FISH を確立し、Xp11.2 転座があることを確認する。

症例をさらに追加して免疫染色と FISH の両方を行い、臨床情報や分子標的薬の反応性を解析する。

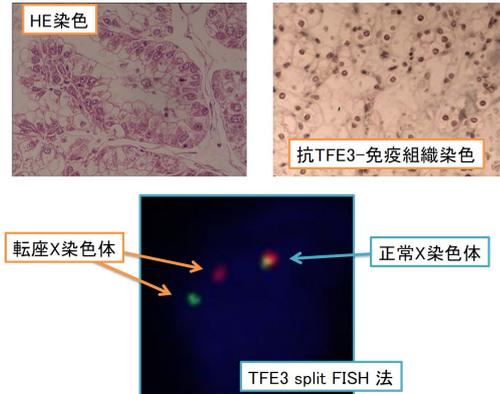
また Xp 転座型腎癌の細胞株は特に貴重であるため、Xp 転座型腎癌が確定している転移病変から細胞株樹立を試みている。

いっぽう、Xp 転座が確定している既存の手術摘出標本から mRNA を抽出し、遺伝子発現プロファイルの構築を試み、このデータから標的分子の同定を試みる。

4. 研究成果

Xp 転座型に関しては多施設研究として、症例を集め、1987年7月から2009年12月までに、手術または生検を行った RCC の症例で組織標本が入手可能であった 280 例に対して TFE3 抗体(Santa Cruz sc5958)を用いてパラフィン包埋された組織切片より IHC を行い 12 例(4.3%)の陽性例を見出しており、また TFE3 遺伝子の 5' と 3' の FISH 用プローブを同定し、TFE3 split-FISH を確立し、TFE3 陽性の多くの例に Xp11.2 転座があることを確認した。症例

をさらに追加して免疫染色と FISH の両方を行い、臨床情報や分子標的薬の反応性を解析し、発表した。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

- 1) Numakura K, Tsuchiya N, Yuasa T, Saito M, Obara T, Tsuruta H, Narita S, Horikawa Y, Satoh S, Habuchi T. A case study of metastatic Xp11.2 translocation renal cell carcinoma effectively treated with sunitinib. *Int J Clin Oncol*. 2011 16(5):577-80. doi: 10.1007/s10147-010-0154-6.
- 2) Maita S, Yuasa T, Tsuchiya N, Mitobe Y, Narita S, Horikawa Y, Hatake K, Fukui I, Kimura S, Maekawa T, Habuchi T. Antitumor effect of sunitinib against skeletal metastatic renal cell carcinoma through inhibition of osteoclast function. *Int J Cancer*. 2012; 130(3):677-84. doi: 10.1002/ijc.26034.
- 3) Tsuchiya N, Yuasa T, Maita S, Narita S, Inoue T, Numakura K, Saito M, Satoh S, Yonese J, Habuchi T. Organ-specific and tumor-size dependent responses to sunitinib in clear cell renal cell. *BMC Urol*. 2014 ;14(1):26. doi: 10.1186/1471-2490-14-26.
- 4) Hatakeyama S, Amano M, Tobisawa Y, Yoneyama T, Tsuchiya N, Habuchi T, Nishimura SI, Ohyama C. Serum N-glycan alteration associated with renal cell carcinoma detected by high-throughput glycan analysis. *J Urol*. 2014 ;191(3):805-13. doi: 10.1016/j.juro.2013.10.052.
- 5) Tsuchiya N, Narita S, Inoue T, Saito M, Numakura K, Huang M, Hatakeyama S, Satoh S, Saito S, Ohyama C, Arai Y, Ogawa

- O, Habuchi T. Insulin-like growth factor-1 genotypes and haplotypes influence the survival of prostate cancer patients with bone metastasis at initial diagnosis. BMC Cancer. 2013 Mar 25;13:150.
- 6) Tsuchiya N, Narita S., Inoue T, Hasunuma N, Numakura K, Horikawa Y, Satoh S, Notoya T, Fujishima N, Hatakeyama S, Ohyama C., Habuchi T. Risk factors for sorafenib-induced high-grade skin rash in Japanese patients with advanced renal cell carcinoma. Anticancer Drugs. 2013 Mar;24(3):310-4
- 7) Suzuki Y, Sutoh M, Hatakeyama S, Mori K, Yamamoto H, Koie T, Saitoh H, Yamaya K, Funiyu T, Habuchi T., Arai Y, Fukuda M, Ohyama C., Tsuboi S. MUC1 carrying core 2 O-glycans functions as a molecular shield against NK cell attack, promoting bladder tumor metastasis. Int J Oncol. 2012;40(6):1831-8. doi: 10.3892/ijo.2012.1411.
- 8) Yuasa T, Tsuchiya N, Urakami S, Horikawa Y, Narita S., Inoue T, Saito M, Yamamoto S, Yonese J, Fukui I, Nakano K, Takahashi S, Hatake K, Habuchi T. Clinical efficacy and prognostic factors for overall survival in Japanese patients with metastatic renal cell cancer treated with sunitinib. BJU Int. 2012 May;109(9):1349-54

〔学会発表〕(計 7 件)

- 1) **The 106th Annual Meeting of the American Urological Association, May, Washisnton DC, USA 2011.** Numakura, K., Tsuchiya, N., Yuasa, T., Inoue, T., Narita, S., Horikawa, Y., Hatakeyama, S., Ohyama, C., Inoue, T., Mimata, H., Saito, H., Arai, Y., Kanno, T., Kamba, T., Ogawa, O., Habuchi, T. Clinical Characteristics of Xp11.2 Translocation Renal Cell Carcinoma in Japanese Adult Patients.
- 2) **The 107th annual meeting of the American Urological Association, May, Atlanta, USA 2012.** Mingguro, H., Narita, S., Maita, S., Numakura, K., Obara, T., Inoue, T., Horikawa, Y., Satoh, S. and Habuchi, T. Stimulation of macrophage inhibitory cytokine-1 by palmitic acid activates prostate cancer cell invasiveness.
- 3) **The 32nd Congress of the Societe Internationale d'Urologie, September-October, Fukuoka,**

Japan 2012 .Tsuchiya, N., Narita, S., Inoue, T., Hasunuma, N., Numakura, K., Horikawa, Y., Satoh, S., Notoya, T., Fujishima, N., Hatakeyama, S., Ohyama, C., Habuchi, T. Risk factors for sorafenib-induced erythema multiforme in Japanese patients with advanced renal cell carcinoma.

- 4) **第76回日本泌尿器科学会東部総会、10月、横浜, 2011** 沼倉一幸、土谷順彦、畠山真吾、大山 力、井上 亨、三股浩光、齋藤英郎、荒井陽一、寒野 徹、神波大己、小川 修、羽瀨友則: Xp11.2 転座をともなう腎細胞癌。優秀ポスター賞
- 5) **第63回日本泌尿器科学会西日本総会、11月、久留米市 2011** 羽瀨友則 : 分子標的薬時代の腎癌の治療戦略 - Sequential に使いこなす - (教育セミナー)
- 6) **第100回日本泌尿器科学会総会, 4月, 横浜, 2012** 土谷順彦, 堀川洋平, 成田伸太郎, 井上高光, 小原崇, 沼倉一幸, 米田真也, 佐藤 滋, 能登谷武, 藤島直仁, 藤山信弘, 三浦昌朋, 畠山真吾, 大山 力, 羽瀨友則: 腎細胞癌患者におけるソラフェニブによる多形紅斑と HLA 型との関連性の検討
- 7) **第100回日本泌尿器科学会総会, 4月, 横浜, 2012** 井上高光、米田真也、沼倉一幸、小原 崇、成田伸太郎、堀川洋平、土谷順彦、佐藤 滋、羽瀨友則: 転移性腎細胞癌に対する mTOR inhibitor を含む Sequential Therapy の経験

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.med.akita-u.ac.jp/~hinyoki/default.html>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
羽瀨友則 (HABUCHI, Tomonori)
秋田大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 00293861
- (2) 研究分担者
大山 力 (OHYAMA, Chikara)
弘前大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 80282135

(3) 研究分担者

三股浩光 (MIMATA, Hiromitsu)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：60219714

(4) 研究分担者

成田伸太郎 (NARITA, Shintaro)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：40396562

(5) 研究分担者

南條 博 (NANJO, Hiroshi)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：70250892