

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 9 月 28 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462418

研究課題名(和文)腎癌の網羅的遺伝子発現解析に基づく新規予後関連遺伝子からの治療標的の探索

研究課題名(英文) Search for therapeutic targets from novel prognostic-related genes based on comprehensive gene expression analysis of kidney cancer

研究代表者

柳田 知彦 (Yanagida, Tomohiko)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：20363765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：進行性腎癌は致死率が高く治療に難渋する泌尿器癌です。臨床経過において多様性を示すことから、予後や治療薬の効果を予測する手段が求められています。本研究では、腎癌の80%以上を占める淡明細胞型腎細胞癌を対象とした網羅的遺伝子発現解析を行い、遺伝子発現様式での分類が淡明細胞型腎細胞癌の予後と強く相関することを確認しました。さらに、臨床における淡明細胞型腎細胞癌を38個の遺伝子発現に基づいて3つのサブグループに分類することが可能で、各グループごとに分子標的薬の治療効果に相違があることが示唆されました。これらの結果から、この分類は臨床における予後予測や治療薬選択に応用できる可能性が示唆されました。

研究成果の概要(英文)：Progressive renal cell carcinoma is a urological cancer that has a high mortality rate and is difficult to treat. Since it shows diversity in the clinical course, there is a need for a method to predict the outcome of prognosis and therapeutic drugs. In this study, comprehensive gene expression analysis was performed on clear cell renal cell carcinoma, which accounts for more than 80% of kidney cancer. We confirmed that the classification in the gene expression profile strongly correlated with disease prognosis of clear cell renal cell carcinoma. Furthermore, it was suggested that clinically clear cell renal cell carcinoma has a difference in the therapeutic effect of targeted therapy in each of three subgroups based on the expression of 38 genes. From these results, it was suggested that this classification could be applied to clinical prognostic predictions and therapeutic drug selection.

研究分野：泌尿器癌

キーワード：腎癌の予後予測 腎癌の網羅的遺伝子発現解析 38遺伝子セット

1. 研究開始当初の背景

(1) 進行性腎癌の臨床的特徴と問題点

進行性腎癌は致死率が高く治療に難渋する泌尿器癌で、症例ごとに癌の進行速度や予後が異なり、分子標的薬などの治療薬の効果においても多様性を示す。転移を有する進行症例を対象に分子標的薬での積極的な治療まで行うかを決め際に、期待余命や副作用やコストに見合うだけの治療効果が得られるかを判断できるバイオマーカーが求められているが、未だに臨床応用できるマーカーはないのが現状である。

(2) マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析

近年のマイクロアレイ技術を応用した網羅的遺伝子発現解析から、様々な癌種における疾患予後を反映する候補遺伝子や遺伝子発現パターンを探索する報告がある^{1) 2) 3)}。このような技術を用いた遺伝子発現に基づく解析は、腎癌の多様性に関する理解や新たな治療ターゲット分子の発見につながる可能性を秘めている。

2. 研究の目的

手術で得られた腫瘍組織を用いた網羅的遺伝子発現解析により、腎癌における予後や分子標的薬治療の効果を予測するマーカーを探索した。

3. 研究の方法

(1) 対象

2008年2月から2012年11月に当施設で腎悪性腫瘍の診断で手術を施行した106例から得られた115サンプルの腫瘍組織を対象とした。内訳は腎細胞癌 96(原発腫瘍 89、転移腫瘍 2、腫瘍塞栓 5)、腎盂癌 12(原発腫瘍 11、リンパ節転移 1)、脂肪肉腫 3、オンコサイトーマ 2、腎血管筋脂肪腫 2サンプルであった。腎細胞癌の組織型は淡明細胞型腎細胞癌(clear cell RCC) 80、乳頭状腎細胞癌 8、嫌色素性腎細胞癌 4、集合管癌 4サンプルであった。

(2) cDNAマイクロアレイ解析

採取した組織は速やかに液体窒素で冷却後にpoly(A)+RNAを抽出し、独自開発のDNAマイクロアレイシステムを用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。サンプルごとの31,797 transcriptsの発現強度を指標としたクラスター解析(ユークリッド平方距離を用いた群平均法)を用いて検討を行った。

4. 研究成果

(1) 淡明細胞型腎細胞癌における分子発現に基づく予後分類

腎細胞癌の組織亜型の80%以上を占める淡明細胞型腎細胞癌(clear cell RCC)の51サンプルを対象に網羅的

遺伝子発現解析を行った。31,797 遺伝子から、サンプル間の発現差が大きい遺伝子を抽出して 38 遺伝子に絞り込んでクラスタ解析を行うと、clear cell RCC は 16 症例の Cluster A 群と 35 症例の Cluster B 群に分類された (図 1)。

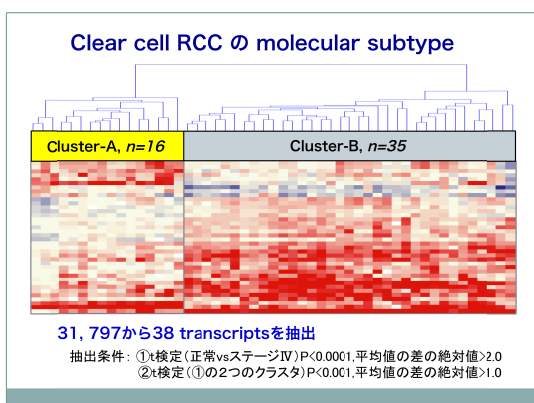


図 1. 淡明細胞癌の 38 遺伝子発現に基づく分類

これらの 51 症例の臨床データをもとに、Cluster A,B の 2 群間における癌特異的生存率を比較すると、Cluster A 群の予後が $p<0.001$ で有意に不良であった (図 2)。

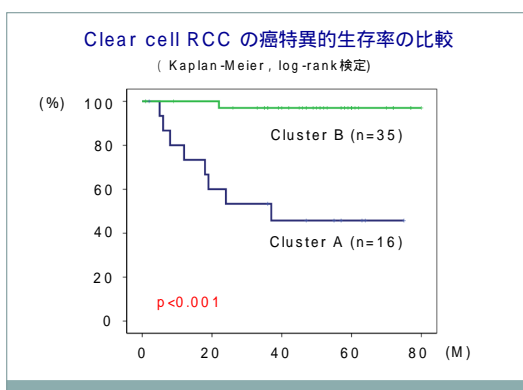


図 2. 淡明細胞型腎細胞癌のクラスタ -A, B 群間での予後の比較

以上の結果から、この 38 遺伝子発現に基づく分類は腎癌の予後を反映した分類であることがわかった。Cluster A の 16 例のうち 11 例の有転移の進行性腎癌症例では tyrosin kinase inhibitor (TKI) を中心とした分子標的治療が行われていたが、そのうちの 7 例は奏功せずに 2 年以内に癌死していた。一方、Cluster B では 3 例の有転移の進行性腎癌症例のうちの 2 例は TKI 治療が奏功して 3 年以上の生存が得られていた。このような TKI 治療の奏効率の差が予後に反映していることが推察された。

(2) 38 遺伝子発現に基づく分類と病理組織学的分類との関連性

本研究で抽出した 38 遺伝子の発現情報をもとに、すべての 115 サンプル (106 例) を対象としたクラスタ解析を行った。得られた 38 遺伝子発現に基づく分類と病理組織学的分類との関連性、さらに予後や分子標的薬の効果との関連性を比較した (図 3, 表 1)。腎悪性腫瘍は 38 遺伝子発現に基づき、淡明細胞型腎細胞癌の 3 グループに (図 3, 表 1 の A, B, F)、乳頭状腎細胞癌は 2 グループに (図 3, 表 1 の C)、嫌色素性腎細胞癌 (図 3, 表 1

の E) 集合管癌 + 尿路上皮癌 + 脂肪肉腫(図 3, 表 1 の D)に分類された。この分類のなかの淡明細胞型腎細胞癌の 3 グループ (A, B, F) は、予後や分子標的薬の効果、奏功した治療薬において相違を認めた。

(3) 研究成果のまとめ

本研究から、予後や分子標的薬の効果が異なる 3 グループの淡明細胞型腎細胞癌を区別できる 38 遺伝子が得られた。この遺伝子セットを用いることで淡明細胞型腎細胞癌の予後や分子標的薬の治療効果を予測できる可能性が示唆された。

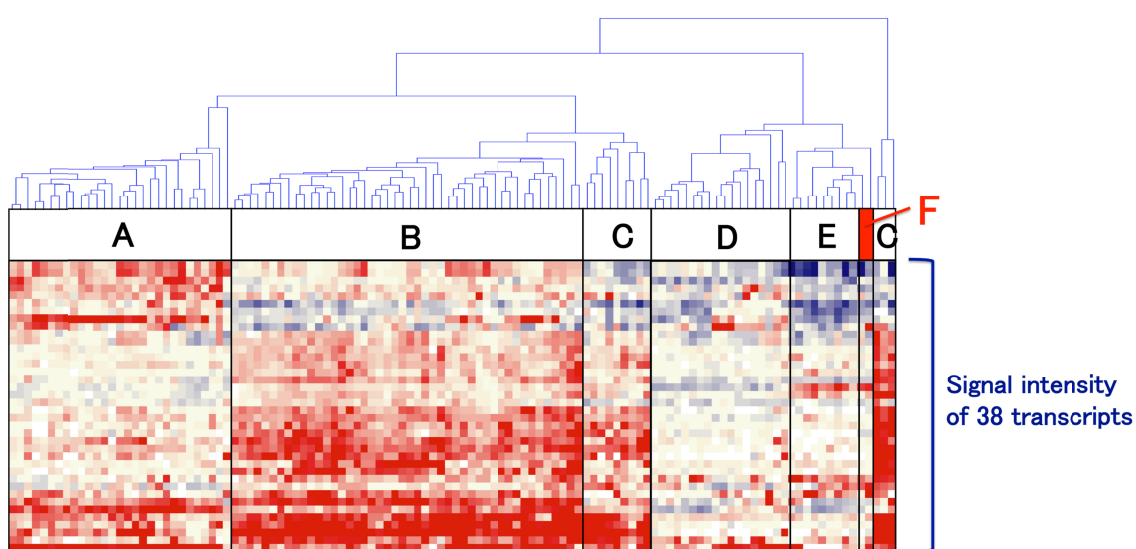


図 3. 腎悪性腫瘍の 38 遺伝子発現に基づく分類

Group	組織型	予後	分子標的薬の効果
A	淡明細胞型腎細胞癌	不良, 極めて不良	不良
B	淡明細胞型腎細胞癌	比較的良好	TKI が奏功
C	乳頭型腎細胞癌	不明 (1)	不明 (1)
D	集合管癌など (2)	不明	不明
E	嫌色素型腎細胞癌	不明 (1)	不明 (1)
F	淡明細胞型腎細胞癌	比較的良好	m-TOLI が奏功

1. 症例が少なく評価不能
2. 集合管癌, 尿路上皮癌, 脂肪肉腫

表 1. 38 遺伝子発現に基づく分類と病理組織学的分類および予後との関連性

引用文献

1) Brannon AR et al: Molecular stratification of clear cell carcinoma by consensus clustering reveals distinct subtypes and survival patterns. Genes Cancer 2010; 1(2): 152-63

2) Kosari F et al: Clear cell renal cell carcinoma: gene expression analyses identify a potential signature for tumor aggressiveness. Clin Cancer Res 2005; 11(14): 5128-39

3) Takahashi M et al: Gene expression profiling of clear cell renal cell carcinoma: gene identification and prognostic classification. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98(17): 9754-9

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕

第 51 回 日本癌治療学会（平成 27 年 10 月，京都），網羅的遺伝子発現解析による腎細胞癌の予後分類と分子標的治療の効果との関連性

第 104 回 日本泌尿器科学会（平成 28 年 4 月，仙台），Relationship between the Gene Expression Profiles of Renal Cell Carcinoma and Both Prognostic Molecular Classification and Response to Targeted Therapy

AUA 2016 Annual meeting SanDiego, CA, Relationship between the Gene Expression Profiles of Renal Cell Carcinoma and Both Prognostic Molecular Classification and Response to Targeted Therapy

6. 研究組織

（ 1 ）研究代表者

柳田 知彦（Yanagida, Tomohiko）福島県立医科大学 医学部 泌尿器科 講師
研究者番号：20363765

（ 2 ）研究分担者

小島 祥敬（Kojima Yoshinobu）福島県立医科大学 医学部 泌尿器科教授
研究者番号：60305539

相川 健（Aikawa Ken）福島県立医科大学 医学部 泌尿器科 准教授

研究者番号：80295419

石橋 啓（Ishibashi Kei）福島県立医科大学 医学部 泌尿器科 准教授

研究者番号：90347211

羽賀 宣博（Haga Nobuhiro）福島県立医科大学 医学部 泌尿器科 助教

研究者番号：50586617