

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591870

研究課題名（和文） 後天性多嚢胞化腎における腎細胞癌発生機構

研究課題名（英文） Mechanism of renal cell carcinoma carcinogenesis arising in the acquired cystic kidney disease

研究代表者

大家 基嗣 (MOTOTSUGU OYA)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：00213885

研究成果の概要：

透析患者では一般人よりも腎細胞癌の発生率が 10～40 倍高い。透析腎は多数の大小不同の嚢胞を合併し、acquired cystic kidney disease (ACKD)と呼ばれている。嚢胞を Carbonic anhydrase IX (CA9)と尿細管の部位特異的に発現する Aquaporin (AQP) 1と2の免疫染色を行った。透析腎から発生する腎細胞癌には嚢胞の多層化より発がんに移行する場合と CA9 陽性細胞から発生する場合との2つの発がん過程が存在す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	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：腎細胞癌、腎不全、発がん

## 1. 研究開始当初の背景

後天性多嚢胞化腎における嚢胞には多層化あるいは乳頭状増殖をきたす部位がある。これらを前癌病変であると考え、初期腎細胞癌とのつながりを解析することが現在不明である腎細胞癌の発生メカニズムに大きな示唆を与えるものと考えた。腎尿細管は肝細胞とともに生体における異物の代謝、排出を行っている。ところが腎不全状態では腎機能の障害により本来は排出されるべき異物が高濃度に蓄積されている。この中に発癌物質が含まれているとすれば、後天性多嚢胞化腎は発癌物質の暴露により癌発生のリスクが高

まっているものと考えられる。

このように後天性多嚢胞化腎は、「発癌における遺伝子変化が生じやすく、蓄積しやすい環境にある」といえる。このような観点での発癌研究は、潰瘍性大腸炎において大腸癌が高頻度に発生すること、特発性間質性肺炎において肺癌が高頻度に発生することの研究は行われている。しかし、腎細胞癌の発生において、後天性多嚢胞化腎に着目した、癌発生における環境要因、つまり炎症と発癌の関係についての研究はなされていなかった。

## 2. 研究の目的

後天性多嚢胞化腎における嚢胞、異型嚢胞から腎細胞癌に至る連続した発がん過程、さらに浸潤、転移において、どのような特徴の細胞が優位を占めているのかを検索し、後天性多嚢胞化腎におけるがんの発生のメカニズムを探る。

## 3. 研究の方法

(1) がんの起源が尿細管のどの部位であるのか、腎細胞癌の起源を探るべく、微小病巣の探索を行った。Carbonic anhydrase IX (CA9)は von Hippel Lindau (VHL) 遺伝子が不活化した場合に蓄積する蛋白である。VHL 患者の淡明細胞癌周囲には CA9 陽性の微小病変が多発している。Aquaporin (AQP) は水輸送に関与する膜蛋白であり、尿細管の部位特異的な発現がある。AQP1 は近位尿細管に、AQP2 は集合管に発現している。連続切片を作成し、発現をパターン化する。

(2) 腎細胞がんの発生と進展における aryl hydrocarbon receptor (AhR) の関与を検索した。嚢胞内ではサイトカインだけでなく腎機能低下により排出されなかった物質が蓄積し細胞に作用していると考えられる。細胞みづからが分泌したサイトカインなどの分泌タンパクがオートクライン的に作用している可能性や、外来異物が高濃度に存在し、細胞に作用している可能性がある。外来異物による細胞の反応は受容体型転写因子である AhR の活性化で検索する。AhR はダイオキシン等の発がん物質をはじめとした外来異物で活性化されることが知られている。

(3) 上部尿路がんにおける AhR の意義を検索した。発がん物質の暴露という観点からタバコと発がんの関連がより深い、尿路上皮腫瘍である腎盂癌と尿管癌における AhR の活性化を検討した。

## 4. 研究成果

(1) がんの起源が尿細管のどの部位であるのか

透析腎癌 19 例を対象に検索を行った。AQP1, 2, CA9 発現によって嚢胞は 4 種に分類可能であった。1 型嚢胞は AQP1 のみ陽性、2 型嚢胞はすべて陰性、3 型嚢胞は AQP2 のみ陽性、4 型嚢胞は CA9 のみ陽性、と分類した。異型嚢胞 7 個は 1 型嚢胞であった。1 型嚢胞は近位尿細管由来であることが示唆される。異型嚢胞、乳頭腺腫および乳頭癌の多くが同じ染色性を示していた。乳頭癌への adenoma-carcinoma sequence の存在が示唆された。4 型嚢胞では、AQP1(-), CA9(+) であり、遠位ネフロン由来と考えられる。また、淡明細胞癌が同様の染色性を示しているこ

とから、4 型嚢胞が淡明細胞癌の発生母地の可能性がある。透析腎から発生する腎細胞癌には 2 つの発がん過程が存在することが示唆された。

(2) 腎細胞がんの発生と進展における AhR の関与

63 例のパラフィン包埋腎細胞癌検体を AhR の抗体で免疫組織染色を行った。このうち 6 例は血液透析患者の後天性多嚢胞化腎に発生した腎細胞癌であった。病理組織学的には淡明型細胞癌 49 例、乳頭型 11 例、嫌色素型 3 例であった。AhR が転写因子であることを考慮し、核染色の陽性例を活性化と判断した。正常腎組織では AhR の活性化を認めなかった。腎細胞癌における AhR の発現は 14 例に認めた。内訳は淡明型細胞癌 12 例、乳頭型 1 例、嫌色素型 1 例であった。後天性多嚢胞化腎の異型嚢胞および腎細胞癌に陽性所見はなかった。T-stage では進行例で有意に陽性例が多かったのに対し、N, M-stage では相関は認められなかった。予想と反して、AhR の活性化は後天性多嚢胞化腎における腎細胞癌の発生には寄与せず、腎細胞癌の初期段階よりも、進展と共に活性化してくることがわかった。

(3) 上部尿路がんにおける AhR の関与

209 例のパラフィン包埋上部尿路上皮癌検体を対象に、抗 AhR 抗体を用いて免疫組織染色を行い、臨床病理学的に検討を行った。腎盂癌が 121 例、尿管癌が 78 例、腎盂および尿管に同時発生した癌が 10 例であった。転写因子型受容体である AhR は活性化により核内に移行することから、核染色の陽性例を AhR 陽性と判定した。正常尿路上皮においては AhR の活性化は認められなかったが、表在癌においては軽度の核染色を認め、浸潤癌の核染色は高度であった。AhR の活性化は、病理学的病期、グレード、脈管浸潤と有意な相関が認められた。多変量解析の結果、AhR の活性化、病理学的病期、脈管浸潤が無病生存期間および疾患特異的生存期間を予測する独立した予後因子であった。これら 3 つの因子を組み合わせ、リスクを層別化して検討を行った。3 因子全てを有するグループを高リスク群、いずれも有さないグループを低リスク群、その他のグループを中リスク群と分類し生存分析を行ったところ、それぞれのリスク群間で有意な差が認められた。尿路上皮癌細胞株 T24 を用いて、AhR が浸潤に与える影響をマトリゲル浸潤アッセイを行い検討した。siRNA により AhR をノックダウンしたところ、細胞の浸潤能の低下が認められた。また、AhR のノックダウンによりマトリックスメタロプロテアーゼ 1, 2, 9 の発現の低下が認められ、浸潤能への影響が示唆された。

今回の検討で腎盂尿管癌において AhR の活性化が確認された。また、病理学的病期、脈管浸潤、AhR の活性化が無病生存期間、疾患特異的生存期間を予測する独立した因子として重要であることが分かった。また、invitro での検討では、AhR が細胞浸潤に関与することが認められ、癌の進展において重要な因子である可能性が示唆された。腎細胞癌と同様に癌の浸潤とともに活性化が生じることが判明した。AhR の活性化は腎・尿路腫瘍に共通してがんの進展に寄与している可能性が示唆された。

#### 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 9 件)

Oya, M. Renal cell carcinoma: Biological features and rationale for molecular-targeted therapy. The keio Journal of Medicine. 58(1): 1-11. 2009. 査読有.

Kikuchi E, Shariat SF, Margulis V, Karakiewicz P, Mikami S, Lotan Y, Renzi M, Bolenz C, Zigeuner R, Weizer R, Montorsi F, Bensalah K, Koppie TM, Fernandez MI, Wood CG, Roscigno M, Raman JD, Suardi N, Strobel P, Oya M. Lymphovascular invasion is a powerful predictor of clinical outcomes in patients with node-negative upper tract urothelial carcinoma. J Clin Oncol. 27(4):612-618. 2009. 査読有.

K.Kanao., R.Mizuno., E.Kikuchi., A.Miyajima., K.Nakagawa., T.Ohigashi., J.Nakashima., M.Oya. Preoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma based on TNM classification. J Urol. 181(1):480-485. 2009. 査読有.

Kosaka, T., Mikami, S., Miyajima, A., Kikuchi, E., Nakagawa, K., Ohigashi, T., Nakashima, J., Oya, M. Papillary renal cell carcinoma: clinicopathological characteristics in 40 patients. Clin Exp Nephrol. 12:195-199. 2008. 査読有.

Kosaka, T., Miyajima, A., Kikuchi, E., Horiguchi, Y., Umezawa, K., Ohigashi, T., Nakashima, J., Asano, T., Oya, M. The novel NF- $\kappa$ B activation inhibitor dehydroxymethyl-epoxyquinomicin suppresses anti-thy1.1-induced glomerulonephritis in rats. Nephron Exp Nephrol. 110: e17-e24. 2008. 査読

有.

Kanao, K., Mikami, S., Mizuno, R., Shinojima, T., Murai, M., Oya, M. Decreased acetylation of histone H3 in renal cell carcinoma: a potential target of histone deacetylase inhibitors. J. Urol. 180: 1131-1136. 2008. 査読有.

Mikami, S., Oya, M., Shimoda, M., Mizuno, R., Ishida, M., Kosaka, T., Mukai, M., Nakajima, M., Okada, Y. Expression of heparanase in renal cell carcinomas: implications for tumor invasion and prognosis. Clin Cancer Res. 14:6055-6061. 2008. 査読有.

Kosaka, T., Mikami, S., Miyajima, A., Oya, M. Metastatic type-2 papillary renal cell carcinoma responded to interleukin-2 therapy: case report. Clin Exp Nephrol, 12:155-158, 2008. 査読有.

Mikami, S., Oya, M., Mukai, M. Angiomyolipoma with epithelial cysts of the kidney in a man. Pathology International, 58:664-667, 2008. 査読有.

[学会発表](計 8 件)

S.Mikami., M.Oya., M.Ishida., R.Mizuno., T.Mori., M.Mukai., Y.Okada. Expression of BMI-1 in renal cell carcinomas and its association with cancer cell proliferation. American Urological Association, 104th Annual Meeting. 2009.4.26. McCormick Place West Building Chicago, Illinois, USA. M.Ishida., S.Mikami., T.Kosaka., H.Kono., E.Kikuchi., H.Nagata., A.Miyajima., K.Nakagawa., M.Mukai., Y.Okada., M.Oya. Elevated expression of aryl hydrocarbon receptor in renal cell carcinoma: its associated with cigarette smoke and the prognosis. American Urological Association, 104th Annual Meeting. 2009.4.26. McCormick Place West Building Chicago, Illinois, USA.

石田 勝、三上修治、小坂威雄、香野日高、菊地栄次、長田浩彦、宮嶋哲、中川健、向井万起男、岡田保典、大家基嗣. 腎細胞癌における Aryl hydrocarbon receptor の発現に対する喫煙の影響と予後因子の臨床病理学的検討. 第 97 回日本泌尿器科学会総会. 2009/4/17.

岡山.  
M.Ishida,S.Mikami,E.Kikuchi,  
T.Kosaka,H.Kono,H.Nagata,  
A.Miyajima,K.Nakagawa,M.Murai,  
Y.Okada,M.Oya.Prognostic  
significance of nuclear  
expression of aryl hydrocarbon  
receptor in urothelial carcinoma  
of the upper urinary tract. 24<sup>th</sup>  
Annual European Association of  
Urology congress.2009.3.19.  
Stockholmsmässan -Stockholm  
International Fairs. Sweden.  
M.Ishida.,S.Mikami., E.Kikuchi.,  
T.Kosaka.,A.Miyajima.,M.Mukai.,  
Y.Okada.,M.Oya.Nuclear expression  
of Aryl hydrocarbon receptor  
predicts prognosis in upper  
urinary tract urothelial cancer.  
第67回日本癌学会学術総会.  
2008/10/29.名古屋.  
M.Ishida.,E.Kikuchi.,S.Mikami.,  
T.Kosaka.,A.Miyajima.,M.Mukai.,  
Y.Okada.,M.Oya. Nuclear expression of  
aryl hydrocarbon receptor predicts  
disease specific survival of  
urothelial carcinoma of the upper  
urinary tract.  
American Urological Association,  
103th Annual Meeting.2008.5.18.  
Orlando.Florida.USA.  
S.Mikami.,K.Katsube.,M.Oya.,  
S.Mochizuki.,M.Shimoda.,R.Mizuno.  
M.Ishida.,T.Ikeda.,M.Mukai.,  
Y.Okada.Rank1 expression in  
clear cell renal cell carcinoma  
s and its association with bone  
metastasis and cancer cell  
migration. American Urological  
Association,103th Annual Meeting.  
2008.5.18. Orlando.Florida.USA.  
S.Mikami.,M.Oya.,M.Shimoda.,  
R.Mizuno.,M.Mukai.,M.Nakajima.,  
Y.Okada.Heparanase expression in  
renal cell carcinomas and its  
association with tumor invasion.  
American Urological Association,  
103th Annual Meeting.2008.5.18.  
Orlando.Florida.USA.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)  
なし

取得状況(計 0 件)  
なし

〔その他〕  
ホームページ  
<http://www.keio-urology.jp>

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
大家 基嗣(OYA MOTOTSUGU)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号: 00213885

(2)研究分担者  
三上 修治(MIKAMI SHUJI)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 20338180

(3)連携研究者  
なし

(4)研究協力者  
宮嶋 哲(MIYAJIMA AKIRA)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 90245572

石田 勝(ISHIDA MASARU)  
慶應義塾大学・医学部・研究員  
研究者番号: 80383876