

令和元年6月13日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K18062

研究課題名(和文)メタボロミクスの観点からみた核医学分子イメージングによる腎腫瘍画像診断の検討

研究課題名(英文)The impact of nuclear molecular imaging based on metabolomics in renal tumor

研究代表者

城武 卓 (Shirotake, Suguru)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：10528805

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、腫瘍組織内のエネルギー代謝異常の可視化が可能な分子イメージングを用いてメタボロミクスの観点から腎腫瘍の新たな鑑別診断方法について検討することを目的とした。目標症例数を50例としたが、研究期間を通じての症例登録は4例のみであり、検討継続中である。

本研究の進捗状況の遅れから、転移性腎癌の分子生物学的検討を行った。低リスク群と高リスク群の間で有意な遺伝子発現の差異を認めた。この遺伝子発現データをもとに遺伝子発現の再プログラム化(高リスク群から低リスク群へのプロファイル転換)を達成し得る薬剤を検討した。LY294002(PI3K阻害剤)を含む13種類の候補薬剤が同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転移性腎癌における全身治療薬は数多く存在するが、その治療選択モデルはいまだ確立していない。本研究によって、リスク群ごとの遺伝子発現プロファイルの違いが明らかにされたことにより、既存の臨床的予後予測モデルが分子生物学的基盤を根拠とした治療選択モデルへと大きく位置づけが変わるであろう。さらにその治療選択モデルに基づいたリプログラミング療法という新たな治療概念を採用することで、効果的・効率的な個別化医療の実現に寄与すると考える。またドラッグリポジショニングを達成することができれば、高騰する医薬品の価格を抑制し、その医療経済的波及効果は計り知れない。

研究成果の概要(英文)：The purpose of our prospective study was originally to investigate the development of newly molecular imaging to visualize the abnormality of energy metabolism in the renal tumor tissue. Unfortunately, only 4 cases were enrolled among total 50 cases of target number. The enrollment is ongoing.

Therefore, we simultaneously analyzed the molecular biology of metastatic renal carcinoma (mRCC) according to risk classifications. The alternative study revealed the significant differences of gene signatures between favorable and poor risk groups in patients with mRCC. Based on their gene expression, we identified 13 compound candidates including LY294002 (PI3K inhibitor), as a conversion modulator of gene signatures from poor to favorable risk groups in mRCC patients.

研究分野：腎癌

キーワード：転移性腎癌 リプログラミング療法

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 検診の普及により、鑑別困難な良性腎腫瘍や、積極的監視療法が考慮される低悪性度の小径腎癌が増加し、侵襲的な腫瘍生検や不要な外科的切除が行われる症例が少なくない。近年、がん細胞におけるエネルギー代謝異常の研究(メタボロミクス)による疾患バイオマーカーの探索が注目されている。核医学分子イメージング(PET 検査など)の定量性能の向上により、腫瘍組織内のエネルギー代謝異常の可視化が可能になっている。以上のことから、当初本研究の目的は、分子イメージングを用いてメタボロミクスの観点から見た腎腫瘍の新たな鑑別診断方法について検討することであった。しかしながら、症例登録に非常に難渋し、50例の組み入れ予定であったが、実際にはわずか4例のみであった。またすべて腎細胞癌であり、比較対象疾患がないことから、解析が困難であり、現在も候補症例を検索中である。

(2) 転移性腎細胞癌(metastatic renal cell carcinoma :mRCC)の5年生存率は約10%とされ、予後不良である。mRCCに対する全身治療としては、従来から行われてきたサイトカイン療法に加え、分子標的治療薬(tyrosin kinase inhibitors: TKIs, mammalian target of rapamycin inhibitors: mTORIs)さらに免疫チェックポイント阻害剤も加わった。mRCCに対する多くの予後予測モデルのうち International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium (IMDC) model (6因子: 診断から転移治療開始までの期間、Karnofsky performance status、Hb値、補正Ca値、好中球、血小板)が頻用される。本モデルは3群(favorable、intermediate、poor群)に分類されるが、半数以上の症例はintermediate群となり、その不均一性は問題である。また、この臨床的予後予測モデルは分子生物学的根拠に欠けており、明確な治療選択モデルとしては不十分である。

当初の研究の進捗状況の遅れから、代替研究として、転移性腎細胞癌におけるリスクモデルごとの分子生物学的基盤の解明に関する研究を同時に行い、その研究成果を以下に示す。

2. 研究の目的

同じmRCC症例であってもfavorable群とpoor群の予後は全く異なる。その理由のひとつとして、治療抵抗性に関する腎癌組織の遺伝子発現プロファイルの差異が関与すると考えられる。本研究の目的は、(i)われわれが作成したmodified IMDC modelに基づくリスク群ごとの分子生物学的基盤の差異を明らかにし、(ii)治療標的因子およびその治療化合物を探索することにある。

3. 研究の方法

埼玉医科大学国際医療センター及び同関連施設において2008年から2014年までの間に転移性腎細胞癌と診断され分子標的治療が施行された311例を対象とし、十分な臨床データを有する213例について解析検討した。IMDCモデル(original)を用いてintermediate risk群を抽出した。多変量解析を用いて独立予後予測因子を探索し、それらを用いて再分類(modified)した。それらのリスクモデルの予後予測能をconcordance indexを用いて検討した。

つぎにmodified favorable群とmodified poor群から腎摘出検体4サンプルずつを選定した。ホルマリン固定パラフィン包埋組織からAllPrep DNA/RNA FFPE Kit (Qiagen)を用いてRNAを抽出した。GeneChip Pico Kitを用いてマイクロアレイ解析を行い、リスク群別の遺伝子発現について検討した。

生命情報学(バイオインフォマティクス)を応用したコネクティビティマップ(CMAP: Broad institute of MIT & Harvard)が作成した遺伝子発現のデータベースで、様々な細胞に様々な薬

剤を作用させて変化する遺伝子発現を網羅的に解析したもの) から遺伝子発現の再プログラム化を達成し得る候補薬剤を検討した。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

Modified IMDC モデルの作成

Intermediate 群において治療前の血清 C 反応性蛋白 (CRP) 値 (HR 2.856、 $p=0.004$)、血清アルブミン (Alb) 値 (HR 2.653、 $p=0.006$)、骨転移の有無 (HR 2.733、 $p=0.001$) が独立予後予測因子であり、これらを用いて IMDC モデルの再分類を行った。Concordance index を用いて、改良モデルの予後予測能の有意な向上を認め (0.68 vs 0.73 , $p<0.001$) また modified poor 群において 2 次治療として TKIs に比して mTORIs による有意な予後延長が示された。

リスク群別の遺伝子発現プロファイルの検討

Modified モデルを用いたリスク群別のマイクロアレイ解析によって、有用な 5 因子 (Fold: >10 or <-10 、 p 値 <0.01) を同定した。(Figure: Scatter Plot)

TNFAIP3 (Fold: -53.29 , $p<0.0001$)

JCHAIN (Fold: -51.75 , $p=0.0003$)

CDK7 (Fold: -12.69 , $p=0.0002$)

DRG1 (Fold: -12.27 , $p=0.0026$)

GRIA4 (Fold: 27.1 , $p=0.0020$)

リプログラミング可能な候補薬剤の探索

この遺伝子発現データをもとに Connectivity map を用いた解析によって、負の相関を示す化合物として LY294002 (PI3K 阻害剤) を含む 13 種類の候補薬剤が同定された (Table)。

(2) 今後の展望

本研究では、IMDC モデルの intermediate 群における治療前血清 CRP、Alb、そして骨転移の有無が独立予後予測因子であった。これらを用いて再分類することで従来の IMDC モデルの予後予測精度の向上が示された。

有意な発現差異を認めた tumor necrosis factor alpha-induced protein 3 (TNFAIP3)、joining chain of multimeric IgA and IgM (JCHAIN)などの多くの遺伝子は炎症もしくは免疫関連遺伝子であった。本結果は、poor 群が favorable 群より免疫チェックポイント阻害剤が有用であるという大規模前向き試験 (CheckMate214 試験) の結果を支持する。

つぎに、modified poor 群において、2 次治療として TKIs に比して mTORIs の有用性が示された。そして poor 群の遺伝子発現プロファイルを favorable 群様に変換する候補薬剤として mTOR

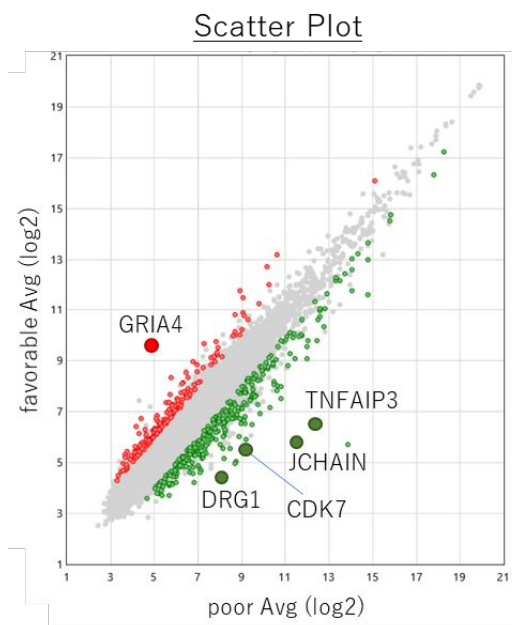


Table: 遺伝子発現プロファイル変換候補薬剤

順位	治療化合物	Negative Enrichment	P値 (<0.01)
1	LY-294002	-0.33	0.00002
2	A	-0.733	0.00072
3	B	-0.768	0.00124
4	C	-0.744	0.00208
5	D	-0.814	0.00219
6	E	-0.89	0.0026
7	F	-0.789	0.00406
8	G	-0.783	0.00442
9	H	-0.652	0.00481
10	I	-0.771	0.00559
11	J	-0.688	0.00661
12	K	-0.943	0.007
13	L	-0.835	0.00881

上流シグナルであるホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) を阻害する薬剤である LY-294002 が挙げられた (他剤 A~L は秘匿)。これは極めて興味深く、mRCC の治療戦略のひとつとして期待される TKIs と mTORIs の併用療法の有効性を支持する結果といえる。臨床応用に向けてさらなる検討が必要である。以上より、本研究結果は、臨床的予後予測モデルの分子生物学的基盤の一端を示すものと考えられた。

mRCC における全身治療薬は数多く存在するが、その治療選択はいまだ確立していない。本研究によって、既知の臨床的予後予測モデルは、分子生物学的基盤を根拠とした治療選択モデルへと大きく位置づけが変わるであろう。さらにその治療選択モデルに基づいたリプログラミング療法という新たな治療概念を採用することで、効果的・効率的な個別化医療の実現に寄与すると考える。またドラッグリポジショニングを達成することができれば、高騰する医薬品の価格を抑制し、その医療経済的波及効果は計り知れない。本研究によって、腎癌診療における治療戦略の新たな展望が期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- (1) Go Kaneko, Suguru Shirotake, Koshiro Nishimoto, Yasumasa Miyazaki, Keiichi Ito, Yujiro Ito, Masayuki Hagiwara, Kent Kanao, Ken Nakagawa, Tetsuo Momma, Tomohiko Asano, Nobuyuki Tanaka, Ryuichi Mizuno, Mototsugu Oya, Masafumi Oyama, Sub-classification of patients with intermediate-risk metastatic renal cell carcinoma treated with targeted therapy. Japanese Journal of Clinical Oncology. 査読あり. 2019; Epub ahead of print. doi: 10.1093/jjco/hyz067

〔学会発表〕(計 2 件)

- (1) Suguru Shirotake. Development of modified IMDC model for metastatic renal cell carcinoma patients. 欧州泌尿器科学会. 2019 年
- (2) 城武 卓. 転移性腎細胞癌予後予測モデルの分子生物学的検討. 泌尿器科分子細胞研究会. 2018 年

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。