

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20789

研究課題名(和文) 転移性去勢感受性前立腺癌の分子生物学的解析に基づくプレジジョン医療の実現

研究課題名(英文) Precision medicine based on molecular biological analysis of metastatic castration-sensitive prostate cancer

研究代表者

住吉 崇幸 (Sumiyoshi, Takayuki)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：30846100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：当教室を中心に全国22大学が参加する前向きコホート研究を計画し、転移性去勢感受性前立腺癌の診断時の生検標本を用いて、200を超える検体を収集することができたので、これらのDNA・RNA・タンパク解析を行った。
今回はRNAについてロングリード解析を行ったところ、前立腺癌の去勢抵抗化を予測する因子として、DNA上は差異が確認されないが転写産物では差異が確認される遺伝子群を同定した。並行してタンパクやcell free DNAを用いた研究も進めており、RNA解析とともに今後も継続する方針である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌はホルモン療法を標準治療としているものの、その治療抵抗性から多くの男性の死因となっており、その治療抵抗性の克服は喫緊の課題となっている。今回我々は前立腺生検標本の遺伝子的解析という方法で、いまだに多くの男性の死因となっている前立腺癌に対し、去勢抵抗化の原因に迫る結果を得ることができた。
ただしRNAのロングリードシーケンスをはじめとした手法はまだ十分に確立されていない側面があるため、並行してDNAやタンパクの解析を進めるとともに、それらの結果や他の報告を複合的に判断・比較するなどして今後も引き続き研究を進めていく必要があるため、当研究室ではさらなる研究を今後も進めていく。

研究成果の概要(英文)：We planned a prospective cohort study involving our department and 22 universities nationwide, and more than 200 specimens were collected. We conducted DNA, RNA and protein analysis using these biopsy specimens at the time of diagnosis of metastatic castration-sensitive prostate cancer.
By performing long-read analysis on RNA, we identified a group of genes that do not show differences in DNA but show differences in transcripts as factors that predict castration resistance in prostate cancer. We are also conducting research using proteins and cell free DNA, and plan to continue this along with RNA analysis.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 プレジジョン医療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌はホルモン療法を標準治療としているものの、進行すると治療抵抗性を呈し、いまだに多くの男性の死因となっており、その治療抵抗性の克服が求められている。特に転移を伴ったホルモン療法を含む治療前の前立腺癌は転移性去勢感受性前立腺癌 (metastatic castration sensitive prostate cancer: mCSPC) と呼ばれ、mCSPC に対する治療はアンドロゲン除去療法 (androgen deprivation therapy: ADT) にアンドロゲン受容体阻害剤 (androgen receptor pathway inhibitors: ARPIs) やドセタキセルを組み合わせで行われる。mCSPC に対して使用可能な薬剤が増え治療選択がこれまでになく複雑になっているため、患者毎に最適な治療法を選択できる指標を開発することが喫緊の課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では mCSPC におけるプレシジョン医療の実現のため、腫瘍組織や血液を用いてゲノムおよびトランスクリプトーム解析を行い、薬剤の治療効果と関連のある分子生物学的特徴を明らかにする。

本研究の目的として以下の内容を掲げる。本研究では mCSPC におけるプレシジョン医療の実現を目指すため、診断時 (mCSPC) に腫瘍組織 (生検組織) や血液を、去勢抵抗性を獲得時 (mCRPC) に血液を採取し、DNA (組織 DNA、血漿遊離 DNA (cell-free DNA; cfDNA)) および RNA をシーケンスする。そして i) 診断時の DNA や RNA の変化 (遺伝子変異、コピー数異常、遺伝子発現変化など) をプロファイリングし、ii) mCSPC の治療効果に関わる遺伝子異常を同定する。さらに iii) 去勢抵抗性獲得時の cfDNA の解析結果から耐性メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

以下の計画で研究を進行する。対象患者・検体採取 (2022-23 年度) 当教室を中心に全国 22 大学が参加する前向きコホート研究 (“ホルモン感受性転移性前立腺癌の生検組織を用いた新規バイオマーカー探索”) に登録された mCSPC 症例を対象とする。前立腺癌の診断目的に採取された前立腺生検組織を病理診断用と研究用に 2 分割し、先端側を研究用として RNA 安定試薬に入れ凍結保存する。血液検体は mCSPC の治療開始前および耐性時に cfDNA 抽出用採血管を用いて約 10mL 採取し室温で保存する。生検組織解析 (2022-2023 年度) 診断用検体の中で腫瘍占拠率や Gleason score が最も高いものとペアの研究用検体から DNA と RNA を抽出し、それぞれエクソンシーケンスと RNA シーケンスを行う。データ解析には東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピュータにある Genomon pipeline を使用し、TP53、RB1、PTEN、SPOP などの遺伝子変化 (変異、コピー数の増幅または欠失、構造異常、遺伝子発現上昇または低下、融合遺伝子など) の有無を評価する。cfDNA 解析 (2023 年度) 血漿から cfDNA を、buffy coat から血球 DNA を抽出し、前立腺癌の病態に關与する 88 遺伝子のターゲットシーケンスを行う。データ解析には当教室で開発したアルゴリズムを使用し (業績 2)、腫瘍由来の cfDNA の割合 (circulating-tumor DNA fraction; ctDNA fraction) の推定や遺伝子変異、コピー数異常、構造異常の有無を評価する。さ

らに mCSPC と mCRPC 間で分子プロファイルを比較して新たに出現(消失)した遺伝子変化を探索し、その変化が耐性メカニズムに関わるか in vitro での検証実験へと結び付けていく。臨床情報と解析結果の統合(2023 年度)全生存期間や去勢抵抗性獲得までの期間に影響を及ぼす遺伝子変化を探索する。また各症例の臨床情報と解析データ統合を行い、予後に相関しうる臨床因子(内臓転移の有無、Gleason score など)の抽出を行い、既存にない新たな予後予測モデルを構築する。

4. 研究成果

大規模前向きコホート研究に登録された mCSPC 症例の検体採取を対象として DNA と RNA を抽出した。生検組織解析(2022-2023 年度)診断用検体の中で腫瘍占拠率や Gleason score が最も高いものとペアの研究用検体から DNA と RNA を抽出し、それぞれエクソン/RNA シーケンスを行った。診断時の新鮮な前立腺生検サンプル 80 個と、前立腺肥大症患者の正常な前立腺組織 17 個から RNA を抽出し、新規技術であるロングリードシーケンス技術を用いて決定された配列データである RNA-seq データは定量的トランスクリプトーム分析のために SPLICE パイプライン (PLoS Genet 2022) によって分析したところ、mCSPC 患者検体と非癌患者検体との間に、DNA レベルの差異は持たないが、RNA レベルでの差異がある遺伝子を同定した。また、それらの遺伝子の転写産物は去勢抵抗化に参与していることを見出した。

別の解析では本研究に登録された mHSPC 患者 203 例から採取した生検組織のうち、57 サンプルから DNA を、34 サンプルから RNA を抽出した。全サンプルがエクソンシーケンスに求められるクオリティ(DIN > 7)を満たしていた。34 サンプルまで変異またはコピー数の解析を行い、変異は主に SPOP、FOXA1、CDK12 などに認められ、コピー数異常も NKX3-1 や RB1 の欠失、MYC 増幅など、前立腺癌の特徴を反映していた。MSH2 のコピー数が著明に低下していたサンプルでは約 1000 個の変異が認められ、ミスマッチ修復遺伝子異常の特徴を示していた。RNA シーケンスは約 90%のサンプルで問題なく施行することができた。遺伝子発現のパターンは 3 種類に分類され、そのうち 1 つのグループは他 2 つのグループと比べてアンドロゲン依存性が低く、生存期間が短い傾向が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 住吉 崇幸
2. 発表標題 The feasibility of molecular profiling of prostate tissue samples obtained from patients with metastatic castration-resistant prostate cancer
3. 学会等名 第110回日本泌尿器科総会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------