

ヒト腎細胞癌（淡明細胞癌）における急速進行 症例特異的遺伝子変化の研究

(課題番号: 11671551)

平成11年度～平成12年度科学研究費補助金 基盤研究 (C)

(2) 研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 岡本 圭生

(滋賀医科大学泌尿器科助手)

滋賀医科大学附属図書館



2001015571

はしがき

腎細胞癌は成人に発生する腎悪性腫瘍としてはもっとも頻度の高いものであるが、現在のところ手術療法が唯一の確立された治療法であり難治性癌の一つとされる。一方、文献的に古くから腎細胞癌は不明熱の原因疾患として記載されており paraneoplastic inflammatory syndrome (PIS) を高頻度に起こす悪性腫瘍として知られている。PIS を呈する腎細胞癌は通常、体重減少や急性炎症反応（血沈、CRP 陽性）を伴い、これらの症例ではきわめて急速な転帰をとることが多く予後不良症例が多いとされる。その結果として発熱、CRP や ESR の上昇が腎細胞癌の予後不良因子として広く認知されてきた。しかし腎細胞癌で何故高頻度に PIS をおこし、さらに同タイプの腎細胞癌が何故予後不良で急速進行型のものが多いかについてはまったく解明されていないのが現状であった。われわれは上記のような PIS を起こす腎細胞癌に特異的な遺伝子変化を探り、腎細胞癌の初期形成からこういった急速な転帰をとるプロセスを明らかにするために分子生物学的研究を行ってきたが、本研究課題ではまず PIS を呈する腎細胞癌の病理組織学的特徴を明らかにし、さらにこれら PIS を呈する腎細胞癌腫瘍組織 DNA において特異的な遺伝子欠失部位を明らかにした。

研究組織

研究代表者 岡本 圭生（滋賀医科大学泌尿器科）

研究分担者 岡田 裕作、吉貴 達寛、金 哲将、片岡 晃（滋賀医科大学泌尿器科）

研究経費

平成11年度 2,400,000 円

平成12年度 1,100,000 円

総額 3,500,000 円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Yuasa T, Okamoto K, Kawakami T, Mishina M, Ogawa O, Okada O.; Expression patterns of cancer/testis antigens in testicular germ cell tumors and in adjacent testicular tissues. *J Urol* 165: 1790-94, 2001.
2. Takimoto Y, Okamoto K, Wakabayashi Y, and Okada Y; Torsion of a spermatocele: A rare manifestation of the spermatocele. *Urol Int* (in press).

(2) 口頭発表

1. 岡本圭生、谷口隆信、Ian Morison, Anthony E Reeve. Wilms 腫瘍の周囲腎組織における IGF2/H19 遺伝子の後成的. 第 86 回日本泌尿器科学会総会、1998. (鹿児島)
2. 岡本圭生、湯浅 健、岡田裕作、三品睦輝、小川 修. 精巣腫瘍における Cancer Testis Antigen 遺伝子の包括的発現解析. 第 88 回日本泌尿器科学会総会、2000. (札幌)

研究成果

本研究課題の成果を要約すると以下のとおりである。その詳細は添付した発表論文に記載する。

手術的に腎摘出術を受けた 72 例の腎細胞癌のうち術前に CRP や ESR の上昇を伴った症例の検討を行ったところ 18 例においてこれら急性炎症反応 (PIS) を認めた (Group A)。まずこれら 18 例の臨床病理学的検討を行ったところ以下の知見を得た。

すなわちこれら 18 例は必ずしも転移・進行症例でない症例も含まれており、4 例では手術後に CRP 等の炎症性パラメーターが正常化していた。さらにこれら 18 例では組織学的にいずれも淡明細胞型腎細胞癌を含んでおり、いわゆる非乳頭状腎細胞癌であった。このことよりわれわれは PIS を呈する腎細胞癌は必ずしも有転移・進行症例ではなく、また PIS は腫瘍細胞自身によって引き起こされている可能性が高いと考えた。

これらの事実よりコントロール群(Group B)として発熱、CRP や ESR の上昇を伴わない淡明細胞型腎細胞癌 (非進行腎癌症例 32 例[GroupB1]、

手術時転移を有する進行腎癌症例 17 例[GroupB2]) を選び、これらの腫瘍および患者血液から DNA を抽出。3p, 4q, 6q, 7q, 8p, 9p, 14q, 17p において 22 箇所のマイクロサテライトマーカーを選びだし LOH の解析を行った。得られた結果について Group A および Group B の間で統計的有意差の検定 (Fisher's exact test)を行った。

その結果

a. 第三染色体短腕における遺伝子欠失 (LOH)

淡明細胞癌において高頻度にみられる第三染色体短腕 (3p) については 6 箇所のマイクロサテライトマーカーを用いて第三染色体短腕の欠失部位に差がないかを検討したが Group A、B 両群でともに 3pLOH を高頻度に認めた。

b. 第三染色体短腕以外の部位における遺伝子欠失 (LOH)

4q, 6q, 7q, 8p, 9p, 14q, 17p において 16 箇所のマイクロサテライトマーカーを用いて LOH 解析を行ったところ第 14 染色体長腕のいずれのマーカーにおいても Group A に特異的に LOH (16/18 [89%]) を認めた ($p < .0001$)。PIS を伴わない群では例え進行転移症例 (GroupB2) でも 14qLOH の頻度は低かった (2/17 [12%])。反対に PIS を伴わない進行転移症例 (GroupB2) では 4qLOH の頻度が高い (11/16 [69%]) 傾向がみられた ($P = .01$)。

本研究の結果、第 14 番染色体長腕欠失が腎細胞癌の臨床症状としての不明熱発生や特異的悪性進展に関与している可能性を示唆された。他の悪性腫瘍、殊に悪性中皮腫、悪性髄膜腫や頭頸部の扁平上皮癌などでも高頻度に 14q の欠失が報告されているが、これらの悪性腫瘍では臨床的に不明熱で発症することが多いことも知られている。今後は第 14 番染色体長腕においてヒト腎細胞癌急速進行症例を規定する当該分子の同定・機能解析を進めたいと考えている。他の悪性腫瘍、殊に悪性中皮腫、悪性髄膜腫や頭頸部の扁平上皮癌などでも高頻度に 14q の欠失が報告されているが、これらの悪性腫瘍では臨床的に不明熱で発症することが多いことも知られており、第 14 番染色体長腕標的遺伝子は腎癌以外の悪性腫瘍にみられる随伴不明熱の原因や悪性進展の分子生物学的機構の解明にもつながる可能性がある。また将来の遺伝子治療の標的分子として応用できれば従来よりきわめて難治性とされる PIS を伴ったヒト腎細胞癌急速進行症例にも治療の道が開けるものと確信する。

これとは別にわれわれは腎細胞癌の癌抑制遺伝子と考えられる VHL 遺伝子の後成的修飾としてのメチル化をはじめて bisulfite genomic sequencing で検出することに成功し、VHL 遺伝子 Exon 1 の CpG sites

のメチレーションプロファイルには極めて variation が存在することを示した。さらに他の遺伝子の CpG sites のメチレーションプロファイル(*p15*, *p16*, *BRCA1*, *Rb*, *E-cadherin*, *AR* および *GPC3*)との相関を検討したところ、VHL 遺伝子のメチル化は *E-cadherin* 遺伝子のメチル化と強い相関を認めた。さらに腎細胞癌では遺伝子欠失とメチル化により VHL と *E-cadherin* という独立した癌抑制遺伝子の不活化をおこしているものが存在することを始めて証明した。