

論文内容要旨

論文題目

プロテオーム解析による腎細胞癌組織バイオマーカーの探索：
核 N-myc downstream-regulated gene 1 の発現レベルは腎細胞癌の
予後予測マーカーになりうる

(Proteomics identified nuclear N-myc downstream-regulated gene 1 as a
prognostic tissue biomarker candidate in renal cell carcinoma.)

責任講座：腎泌尿器外科学講座

氏名：細谷 法之

【内容要旨】(1,200 字以内)

腎細胞癌は前立腺癌、膀胱癌に次ぐ患者数を占める重要な泌尿器腫瘍である。毎年世界で 209,000 人が罹患し、102,000 人が死亡している。患者数は増加傾向にあり本疾患の重要性は高まっている。近年分子標的薬が導入され、治療の選択肢が増えつつある。治療に際しては患者の予後因子を評価し、その評価に応じた治療選択を行うことが望まれているが、腎細胞癌の予後を評価しうる組織バイオマーカーは殆どなく、分子背景も明らかにされた新規バイオマーカーの開発が望まれていた。

我々は、淡明細胞型腎細胞癌(ccRCC)組織中の発現異常タンパクからバイオマーカーとして利用可能なタンパクの同定を行った。本研究は山形大学腎泌尿器外科学講座と国立がん研究センター研究所創薬プロテオーム研究分野との共同研究である。ccRCC 患者 9 名より、ccRCC 組織と非腫瘍腎皮質組織を採取し、組織プロテオーム解析により発現比較を行った。臨床凍結組織から回収したタンパクサンプルを蛍光 2 次元電気泳動法により分離のうえ発現比較を行った。3,771 個のタンパクスポットから 73 個のタンパクスポットが統計的有意($p <$

0.05)に3倍差以上の発現差を有していた。この73タンパクスポットについて、質量分析によりタンパク同定を行った。我々はその中から N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1)に着目した。NDRG1は myc ファミリー、p53、hypoxia inducible factor-1A など、腎細胞癌の進展に関して重要なタンパク群と相互作用することが報告されている。これまでに様々な癌種で報告がなされていたが、腎細胞癌においてはその臨床的意義や機能的意義に関し報告がなかった。我々は新たに82例の ccRCC について、免疫組織染色によりその発現レベルを検討するとともに予後解析を行った。腫瘍細胞核の NDRG1 発現レベルが高い症例では有意に予後が良好だった ($p < 0.05$)。多変量解析において、腫瘍細胞核における NDRG1 発現レベルは非進行生存期間について独立した予後因子であることが示された ($p = 0.01$)。我々はさらに腎癌細胞株を用いて NDRG1 の腎細胞癌細胞における機能的意義を検証した。NDRG1 の発現量を低下させると腫瘍細胞の増殖や浸潤能は有意に高まった。一方で鉄キレート剤により NDRG1 の発現量を増加させると腫瘍細胞増殖は抑えられた。以上のことから核 NDRG1 には腫瘍抑制作用があり、このことが患者の予後にも表れているのではと考えられた。

NDRG1 は腎細胞癌の予後予測マーカーに利用できる可能性があり、これによって腎細胞癌治療戦略の向上につながりうると期待される。

平成 26年 1月 20日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 細谷 法之

論文題目：プロテオーム解析による腎細胞癌組織バイオマーカーの探索：核 N-myc downstream-regulated gene 1 の発現レベルは腎細胞癌の予後予測マーカーになりうる
(Proteomics identified nuclear N-myc downstream-regulated gene 1 as a prognostic tissue biomarker candidate in renal cell carcinoma)

審査委員：主審査委員 北中 千史



副審査委員 富田 善彦



副審査委員 吉岡 孝志



審査終了日：平成 26年 1月20日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

腎細胞がんは前立腺がん、膀胱がんに次ぐ患者数を占め、患者数も増加傾向であるなど、重要な泌尿器腫瘍の一つとして位置づけられている。近年分子標的薬が導入され治療の選択肢が増えつつあるが、治療選択においては予後評価が一つの重要な指標となる。然るにこれまでのところ腎細胞がんの予後評価に有用な分子マーカーは見つかっていない。

このようななか、申請者らのグループは腎細胞がんの新規分子マーカーを見出すことを目的として、淡明細胞型腎細胞がん(ccRCC)と非腫瘍性腎皮質とで発現レベルの異なるタンパク質を組織プロテオーム解析により探索することを試みた。両組織(腫瘍組織および非腫瘍組織)から得たサンプルを蛍光2次元電気泳動法により分離のうえ発現比較を行ったところ、3,771個のスポット中73個が統計学的有意差をもって3倍以上の発現レベルの差が認められた。これら73スポットの質量分析により同定されたタンパク質の一つとして申請者らはN-myc downstream-regulated gene 1(NDRG1)に着目し、以降の解析を進めた。まずccRCCと非腫瘍組織、特にその発生母地と考えられる近位尿細管細胞におけるNDRG1の発現をウエスタンブロット法、免疫組織化学法により検証を行ったところ、非腫瘍組織とccRCC組織の間で明らかなNDRG1発現レベルの違いが確認された。次いで82例のccRCCにおけるNDRG1発現(免疫組織化学法による)と予後との関係を検討したところ、無増悪生存期間、疾患特異的生存期間ともNDRG1核内高発現群で有意に予後が良好であることが明らかとなった。さらに、他のccRCC予後関連因子を含めた多変量解析でも、NDRG1核内高発現は無増悪生存期間の独立した予後因子であることが確認された。これらの結果はNDRG1核内発現が腎細胞がん予後評価のバイオマーカーとなる可能性を示唆するものである。加えて申請者らは腎細胞がん培養細胞株を用いたin vitro機能解析実験により、NDRG1が腎細胞がん細胞の増殖や浸潤能を負に制御している可能性を示した。

以上の結果は核内NDRG1発現が腎細胞がんの予後予測に有用なバイオマーカーとなる可能性を初めて明らかにしたものであり、またNDRG1の腎細胞がんにおける生物学的役割についても新たな洞察を与えるものである。従って本審査委員会は本研究が学位(医学)の授与に値するものと判定する。

(1, 200字以内)