

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：岩田 鉄平

専攻分野：腎泌尿器外科学

指導教授：菊地 栄次

主論文の題目：

A New Bioinformatics Approach Identifies Overexpression of GRB2 as a Poor Prognostic Biomarker for Prostate Cancer

(新しいバイオインフォマティクスアプローチによって同定した前立腺癌における予後不良のバイオマーカーとしての GRB2 の過剰発現)

共著者：

Anna S. Sedukhina, Manabu Kubota, Shigeko Oonuma, Ichiro Maeda, Miki Yoshiike, Wataru Usuba, Kimino Minagawa, Eleina Hames, Rei Meguro, Sunny Cho, Stephen H. H. Chien, Shiro Urabe, Sookhee Pae, Kishore Palanisamy, Toshio Kumai, Kazuo Yudo, Eiji Kikuchi, Ko Sato

緒言

現在臨床で前立腺癌の悪性度を判定するのに使用されているものは、形態学的特徴に基づくグリソンスコア (Gleason score: GS) である。優勢病変と随伴病変を判定し、その数値の合計で 9 段階に分類する。GS が高いほど悪性度は高くなり、GS \geq 8 の場合、高リスク癌と定義される。今回我々は米国の大型癌ゲノムプロジェクトで 20 種類以上の癌種についてゲノム・メチル化異常、遺伝子・タンパク質異常について網羅的な解析がなされた TCGA データセットを用いて、GS \geq 8 の癌についてバイオインフォマティクス分析を行い、GRB2 (シグナル伝達カスケードを活性化する機能を有するアダプタータンパクの一つ) の過剰発現が前立腺癌 (GS \geq 8) における再発期間短縮に関連していることを同定した。そして、臨床現場で採取した前立腺生検サンプルを使用し免疫組織染色

(immunohistochemistry: IHC) を行い、GRB2 が前立腺癌の再発期間短縮を予測するバイオマーカーになり得ることを検証した。

方法・対象

バイオインフォマティクス分析においては、Zスコアを用いてHR (Hazard Ratio)を算出し、そのカットオフ値をCox回帰モデルで決定した。

経路分析 (Ingenuity Pathway Analysis: IPA) においては、生存期間短縮に関連する分子を、専用のIPAソフトウェアを用いて特定した。

生存分析は、 Kaplan-Meier法を、多変量解析はCox比例ハザードモデルを使用して行った。

IHCは、200個以上の細胞を含んだ任意の3領域を高倍率視野で観察し、染色強度とその分布で規定されるHスコアで評価した。2003年1月から2014年8月に聖マリアンナ医科大学病院で生検によりGS \geq 8の前立腺癌と診断された107人を対象とした。

なお、臨床サンプルを含むすべての実験は、聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会によって承認された (承認3181号)。

結果

TCGAデータセットより、GS \geq 8の前立腺癌は201例選択され、関連する遺伝子は18393個抽出された。Cox回帰モデルで定義したカットオフ値に基づき、予後に関連する遺伝子を選択したところ4956個の遺伝子が抽出された。さらにその発現量を標準正規分布に表出し、Zスコア +1以上、あるいはZスコア -1以下の遺伝子を選択したところ613個の遺伝子が抽出された。これら613個の遺伝子をIPAに導入したところ、生存期間の短い集団において11の経路が有意に増強 (アップレギュレーション) されていた ($p < 0.05$)。そしてGRB2はこれらの経路のうち大部分(10の経路)に関与しており、悪性度の高い前立腺癌の予後と強く関連する因子であることが示唆され、以後の研究ではGRB2の発現に注目した。

TCGAデータセットを用いてGRB2のmRNAが無増悪生存期間に影響を与えるかを検討したところ、GRB2過剰発現群の無増悪生存期間の中央値は

12.08カ月で、GRB2低発現群（31.91カ月）と比較して有意に短かった（ $p=0.0002$ ）。またGRB2の過剰発現は独立して無増悪生存期間の短縮に関連していた（ $HR=2.410$, $p<0.001$ ）。さらに聖マリアンナ医科大学病院で前立腺生検が施行された集団を用いてGRB2のタンパク発現が無増悪生存期間に影響を与えるかを検討したところ、GRB2過剰発現群の無増悪生存期間の中央値は2.33カ月で、GRB2低発現群（22.24カ月）と比較して有意に短かった（ $p=0.0003$ ）。またGRB2の過剰発現は独立して無増悪生存期間の短縮に関連していた（ $HR=2.058$, $p<0.05$ ）。

考察

受容体型チロシンキナーゼはRas (rat sarcoma virus) / MAPK (mitogen-activated protein kinase) およびPI3K (phosphoinositide 3 kinase) / AKT (protein kinase B) を活性化することにより、形質転換と転移を促進する。GRB2はこれらのシグナル伝達カスケードを活性化することにより、癌の増殖・転移を促進すると考えられている。Ras/MAPK、PI3K/AKT経路の活性化に関与するHer2を発現している前立腺腫瘍マウスモデルにおいて、GRB2阻害は抗癌剤と併用することにより、Her2に依存せず、腫瘍増殖を抑制することが報告されている。他癌種においてはGRB2を標的とした新規治療法の開発が進められている。リポソームを組み込んだオリゴヌクレオチドを使用してGRB2を特異的に阻害することにより、BCR-ABL陽性白血病細胞の増殖抑制が認められることが報告されている。実際、第I/Ib相試験において急性骨髄性白血病患者へのGRB2阻害薬の使用は有望な結果を示した。以上よりGRB2はGS \geq 8の前立腺癌の治療開発における新規ターゲット分子として有望であることが示唆される。

結論

GRB2の過剰発現はGS \geq 8の前立腺癌の予後不良因子であると考えられた。GRB2を阻害することにより、GS \geq 8の高悪性度の前立腺癌の新規治療法の確立が期待される。