

2020年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」

調査研究報告書（公開版）

【研究題目】透析腎癌に特異的な糖鎖組織マーカーの確立をめざした臨床病理学的検討

【整理番号】TK20-045

【代表機関】筑波大学 医学医療系

【調査研究代表者（氏名）】川西 邦夫

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門 分子細胞マルチオミクス研究グループ：佐藤 隆

【TIA 外連携機関】

- 1) 東京女子医科大学 泌尿器科学
石原 弘喜 医員・高木 敏男 准教授
- 2) 東京女子医科大学病院 病理診断科
長嶋 洋治 教授

【報告書作成者】川西 邦夫

【報告書作成年月日】2021年3月30日

【連携推進（具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等）】

1. TIA かけはし共同研究の Goal

透析患者では腎細胞癌（renal cell carcinoma, RCC）の罹患率が非透析患者の15倍に上昇する。透析腎癌に特異的な組織型である後天性嚢胞腎随伴性腎細胞癌（acquired cystic disease associated renal cell carcinoma, ACD-RCC）は画像診断が困難で、診断に有用なバイオマーカーの開発が求められている。研究チームは目標を「ACD-RCCに特異的な糖鎖（糖タンパク質）を同定し新規バイオマーカー確立すること」に設定した。また、TIA かけはしを契機とする中長期的な人材交流、すなわち、「若手病理医と糖鎖研究者の交流、筑波大-産総研の施設間の継続的かつ発展的な共同研究体制の構築」を目標に掲げて連携を開始した。

2. 2020年度 TIA かけはしの活動概要

2019年度 TIA 研究体制（倫理承認番号：R1-021）では、つくばヒト組織バイオバンクセンターに保管された透析腎癌のうち、主要な組織型である ACD-RCC と淡明型腎細胞の組織検体に対し、次世代シーケンサーによる糖鎖関連遺伝子の解析とレクチンアレイによる糖鎖構造の網羅的解析を施行し、その成果の一部を学会発表や和文雑誌等で報告した。2020年度 TIA では、世界トップレベルの透析腎癌症例数を有する東京女子医科大学（TIA 外連携機関）との共同研究を開始し、透析腎癌の五大組織型（ACD-RCC、淡明型腎細胞癌、乳頭状腎細胞癌 type 1、乳頭状腎細胞癌 type 2、嫌色素性腎細胞癌）と、通常の腎癌の四大組織型（淡明型腎細胞癌、乳頭状腎細胞癌 type 1、乳頭状腎細胞癌 type 2、嫌色素性腎細胞癌）に対し糖鎖解析を行った。研究活動を TIA 外連携に拡大することで、2019年度 TIA で発見した ACD-RCC 特異的な糖鎖構造の大規模同定（＝糖タンパク質の構造決定）で得られた結果の検証に必要な症例数や組織型へのアクセスが可能となり、将来のバイオマーカー確立にとって必須となる研究体制を確保できた。

【調査研究内容】

1. 背景・課題

国内に34万人以上存在する透析患者では、腎細胞癌の罹患率が非透析例の約15倍に増加する。透析と関連しない通常発生の腎細胞癌との違いを明確にするため、我が国では「透析腎癌」の呼

称が用いられている。透析の初期に認められる RCC の組織型は非透析での腎癌に多い淡明型腎細胞癌であるが、透析治療の期間年数が進むと、後天性嚢胞腎 (acquired cystic kidney disease, ACKD) を母地とする ACD-RCC の発生頻度が増加する。透析患者全体の約半数が 5 年以上の長期透析例であり、患者の平均透析年数が今後も増加する我が国の透析医療において、透析腎癌は特に重要な疾患である。淡明型腎細胞癌とは異なり、ACD-RCC は造影 CT による検出が困難なため、透析患者は定期的な CT、エコーなどの検査を受け、ACKD が進行する過程で透析腎癌が否定しきれない場合は、MRI の所見、透析年数やその他の予後因子などを総合的に判断して摘出手術を行う診断的治療が行われるのが実情である。腎細胞癌は、透析腎癌だけではなく、非透析例も含めて特異的な腫瘍マーカーが確立していない。本研究を通して、透析腎癌や非透析例の腎癌のバイオマーカーを確立することができれば医学的な発見にとどまらず、実臨床において極めて有用である。

2. 実施内容

A. 次世代シーケンサーを用いた糖鎖関連遺伝子の網羅的解析

透析腎癌の主要な組織型である、ACD-RCC と淡明型腎細胞癌のパラフィン包埋検体から RNA 抽出に成功した。次世代シーケンサーを用いた RNAseq により糖鎖合成・糖鎖修飾に関連する 220 の酵素遺伝子 (GlycoGene Database) を解析し、ACD-RCC ではシアル酸やフコースの修飾に関わる酵素の遺伝子発現が亢進していることを見出した。この結果の一部は以下の和文雑誌に報告した。

川西 邦夫、岡谷 千晶、長田 道夫：後天性嚢胞腎随伴性腎細胞癌における糖鎖関連遺伝子の次世代シーケンサー解析、日本透析医会雑誌 35(3)：673-678, 2020

B. レクチンアレイを用いた糖鎖関連遺伝子の網羅的解析とそれに基づく組織解析

つくばヒト組織バイオバンクセンターの ACD-RCC と透析例の淡明型腎細胞癌のパラフィン包埋検体より癌部と非癌部組織を顕微鏡下に Laser で単離 (laser capture microdissection, LMD) し、糖タンパク質を抽出しレクチンアレイによる網羅的な糖鎖解析を行った。ACD-RCC ではシアル酸やフコースの発現が亢進していることが示され、抽出した特異的レクチンによる組織染色、レクチン染色と組み合わせた低真空走査型電子顕微鏡観察により検証を行った。結果の一部は第 63 回日本腎臓学会学術集会総会で発表 (英語口演) し、Best Abstract Award を獲得した。
Kunio Kawanishi, Chiaki Nagai-Okatani, Atsushi Kuno, Takashi Sato, et al., Glycan profile of acquired cystic disease associated renal cell carcinoma using lectin microarray systems. the 63rd Annual Meeting of the Japanese Society of Nephrology (08/19/2020-08/21/2020).

第 50 回日本腎臓学会東部学術大会 (2020 年 9 月 26 日-9 月 27 日：つくば国際会議場) の事務局長を勤めた際、シンポジウム 10「透析腎癌」を企画し共同研究の発展と TIA 研究の啓蒙を図った。
シンポジウム 10「透析腎癌」

「透析腎癌の臨床」早見 典子 (虎の門病院腎センター内科)

「透析腎癌の病理」長嶋 洋治 (東京女子医科大学診断病理部)

「透析腎癌の糖鎖解析」川西 邦夫 (筑波大学 医学医療系 生命医科学域 腎・血管病理学)

「透析腎癌 NGS 解析で見えた特徴」石原 弘喜 (東京女子医科大学泌尿器科)

上記に続いて 2020 年度は東京女子医科大学が保有する透析腎癌五大組織型、非透析腎癌四大組織型の腎癌のパラフィン包埋検体の癌部組織を LMD により単離しレクチンアレイ解析を行った (倫理承認番号：1521 号)。現在 TIA2019 同様の組織解析を実施中である。また、TIA2019 で見

出した ACD-RCC で産生が更新するシアル酸やフコースの糖鎖構造とそのキャリア蛋白の大規模同定を実施中であり、その検証作業が完了次第、知財取得、論文化を行う。

【今後の活動予定】

TIA かけはし研究の中長期的な目標である筑波大学-産総研間の継続的かつ発展的な共同研究体制を目指し、本研究の継続・産学連携強化・知財化などを進め、橋渡し事業への申請を予定する。

【研究と製品化に向けて】

A. 同定した糖タンパク質の精製と糖鎖プロファイリング

同定した ACD-RCC に特異的な糖タンパク質（キャリア蛋白）を、患者病理組織の癌部・非癌部から免疫沈降などにより収集し、再度糖鎖プロファイリングを行う（二次的検証作業）。その後、TIA かけはし 2020 研究によりアクセス可能となった多数検体において、目的タンパク質の集積後、特異的な糖鎖構造を認識するレクチンの選抜を行う。この過程で、目的の糖タンパク質のタンパク質部位を認識する特異抗体と、糖鎖部位を認識する特定のレクチンを絞り込み、両者を用いたサンドイッチ ELISA 系を確立する。

B. 臨床研究（後ろ向き横断観察研究）

透析腎癌の五大組織型、非透析の腎癌四大組織型の癌組織から抽出した標的糖タンパク質を ELISA 系により検出できるか検証する。さらに、ACD-RCC 患者の血清中から標的糖タンパク質を検出できるかの条件設定を行う。

C. 研究開発型ベンチャーの設立

診断薬製造企業とのタイアップにより 3 年以内の本格製品化を目指す、研究開発型ベンチャーの起業を行う。その準備として、2021 年度アントレプレナーシップデベロップメントプログラムへの参画を予定する。

【Grant 申請】

1. 2021 年つくば産学連携強化プロジェクト（2/26 申請書提出）

2. アントレプレナーEDGE-NEXT プログラム（基礎 4 月申請予定）

①春：アントレプレナーシップトレーニング（毎年 6 月～8 月頃）

2020 年度開催内容：<https://www.sanrenhonbu.tsukuba.ac.jp/edge-next20203/>

②秋：アントレプレナーシップデベロップメント（毎年 9 月～12 月頃）

2020 年度開催内容：https://www.sanrenhonbu.tsukuba.ac.jp/edge2020_07/

2020 年度開催報告：<https://bit.ly/3uuRHjd>

3. 2022 年度 AEMD 橋渡し研究（2021 年秋頃に申請予定）

以上