

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18576

研究課題名（和文）網羅的ゲノム解析による尿路上皮癌の分子病態の解明と個別化医療への応用

研究課題名（英文）comprehensive molecular analysis of urothelial cancer

研究代表者

佐藤 悠佑（Sato, Yusuke）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20372378

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：上部尿路上皮癌は膀胱癌に次いで代表的な尿路上皮癌であるが、その分子病態は十分に解明されていなかった。東京大学泌尿器科において手術を行った上部尿路上皮癌199症例について手術検体を採取し、全エクソンシーケンシングによる網羅的な遺伝子変異解析、RNAシーケンシングによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、TP53、FGFR3、RASの変異の状態により症例を5群に分類することが可能であった。この分子サブタイプは遺伝子発現のプロファイルや病変の部位、予後とよく相関した。また、尿沈渣からDNAを抽出し変異解析を行うことにより、高い感度・特異度で上部尿路上皮癌を診断することが可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上部尿路上皮癌は腎盂および尿管に発生する悪性腫瘍である。組織学的に膀胱癌と類似するため膀胱癌に準じた治療を行うことが多いが、上部尿路上皮癌に注目して行われた研究は少ない。また膀胱癌と比べて診断の難易度が高く、早期発見が難しい悪性腫瘍である。進行例に対しては化学療法が行われるが、その治療成績は満足いくものではない。

本研究により上部尿路上皮癌の分子病態の全容だけでなく、分子病態により5つのサブタイプに分類できることが明らかになった。分子病態に基づいて症例を分類することにより、より適切な治療戦略を立てることが可能になることが期待される。さらに尿を用いた解析により診断の精度が上昇することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Upper urinary tract urothelial carcinoma (UTUC) is one of the common urothelial cancers. Its molecular pathogenesis, however, is poorly understood, with no useful biomarkers available for accurate diagnosis and molecular classification. Through an integrated genetic study involving 199 UTUC samples, we delineate the landscape of genetic alterations in UTUC enabling genetic/molecular classification. According to the mutational status of TP53, MDM2, RAS, and FGFR3, UTUC is classified into five subtypes having discrete profiles of gene expression, tumor location/histology, and clinical outcome, which is largely recapitulated in an independent UTUC cohort. Sequencing of urine sediment-derived DNA has a high diagnostic value for UTUC with 82.2% sensitivity and 100% specificity. These results provide a solid basis for better diagnosis and management of UTUC.

研究分野：泌尿器腫瘍

キーワード：尿路上皮癌 腎盂尿管癌 ゲノム解析 分子サブタイプ

1. 研究開始当初の背景

尿路上皮癌は、腎盂・尿管・膀胱の悪性腫瘍のおよそ90%を占め、同時性ないし異時性に腫瘍が多発する。筋層への浸潤の有無によって表在癌と浸潤癌に大別され、その予後は全く異なる。表在癌は手術によって完全に切除しうるが、高頻度(～60%)に膀胱内に再発する。浸潤癌では、手術によって完全に切除したと考えられる場合においても、遠隔転移をきたすことが多い。転移例に対しては、シスプラチンを中心とした化学療法が行われるが、病巣が完全に消失することは稀であり、予後は不良である。

また、上部尿路上皮癌は腎盂および尿管に発生する悪性腫瘍であるが、組織学的に膀胱癌と類似するため膀胱癌に準じた治療を行うことが多いものの、上部尿路上皮癌に注目して行われた研究は少ない。また、膀胱癌の診断は外来で行う膀胱鏡にて可能であることが多いのに対し、上部尿路上皮癌の場合は入院・麻酔下に逆行性尿路造影検査や尿管鏡検査を行う必要があり、診断に侵襲的な検査を要し早期発見が困難な悪性腫瘍である。

診断や治療効果判定に有用なバイオマーカーも存在せず、尿細胞診検査が診断の補助に用いられることはあるが、感度が低いことが問題である。

尿路上皮癌の診断や治療を発展させるためにはこれらの課題を克服することが重要であるが、そのためには背景となる尿路上皮癌の分子病態の全容を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

本研究では上部尿路上皮癌を中心に網羅的なゲノム解析を行うことによって、尿路上皮癌における分子病態の理解を深め、将来的な個別化医療への応用に向けた基盤となる遺伝学的知見を確立することを目指す。

3. 研究の方法

上部尿路上皮癌に対して手術(腎尿管全摘除術)199例について、腫瘍組織を採取した。また正常組織として腎皮質もしくは末梢血を採取した。腫瘍ならびに正常組織からDNAとRNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いた全エクソンシーケンシング、RNAシーケンシングを行い、網羅的な遺伝子変異解析、遺伝子発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) 上部尿路上皮癌と膀胱癌の遺伝子異常の違い

全エクソンシーケンシングによる遺伝子変異解析により上部尿路上皮癌における遺伝子変異の頻度を調べたところ、5.5%の症例は他の症例と比べ著しく遺伝子変異の多い(高頻度変異)状態だった(図1)。これらの多くはMSH2やMSH6など、ミスマッチ修復遺伝子の異常に起因していた。また、26の遺伝子で有意に高頻度に変異を生じており、これらが重要なドライバーとなっていると考えられた。

次に、膀胱癌における先行研究データを用いて腎盂、尿管、膀胱の各部位の癌における遺伝子異常の比較を行ったところ、一部の遺伝子異常において部位毎に頻度の差があることが明らかになった(図1)。例えば、RAS(HRAS、KRAS、NRAS)の変異は腎盂癌に多く、ERBB2の変異は膀胱癌に多く、またKDM6A、TERTプロモーターの変異は膀胱癌及び腎盂癌で多く認められた。一方、尿管癌ではKMT2Dの変異や高頻度変異型の症例が多く認められた。これらのことから、同じ尿路上皮という細胞に発生する癌でも、解剖学的部位により発癌に関わる遺伝子が異なる可能性が示唆された。

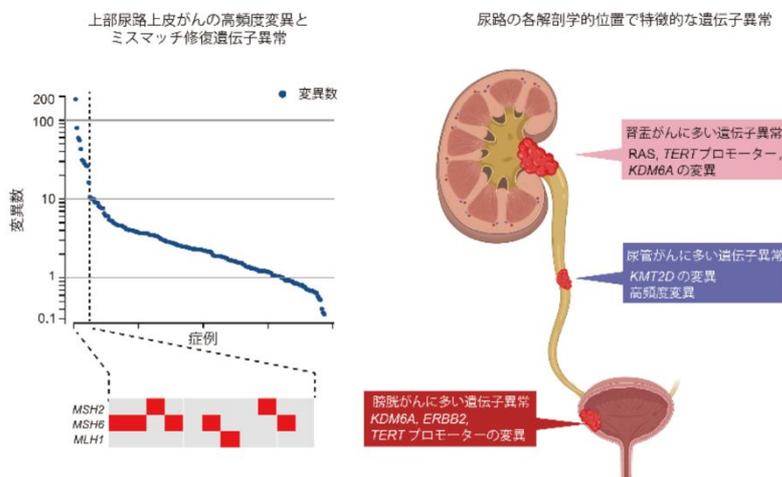


図1: 上部尿路上皮がんの変異数と尿路上の各部位に特徴的な遺伝子異常

(2) 遺伝子異常に基づく上部尿路上皮がんの分子病型分類と臨床的特徴

次に遺伝学的特徴に基づき上部尿路上皮癌の分類を行った。遺伝子変異のパターンを調べたところ、TP53、MDM2、RAS(HRAS、KRAS、NRAS)、FGFR3 の遺伝子異常がほぼ排他的に存在した。これらの遺伝学的異常に基づき、上部尿路上皮癌は高頻度変異型、TP53/MDM2 変異型、RAS 変異型、FGFR3 変異型、トリプルネガティブ(上記のいずれの遺伝学的特徴も持たない病型)の5つに分類することができた(図2)。これらの分子サブタイプはそれぞれ異なった病理学的特徴及び予後を示していた。例えば高頻度変異型やFGFR3 変異型は早期あるいは低悪性度の傾向にあり、生存率も良好であるのに対し、TP53/MDM2 変異型やトリプルネガティブはより進行した高悪性度の病理像を示し、生存率も低い傾向にあった。RAS 変異型はこれらの中間の病理学的特徴、生存率を示した(図2)。

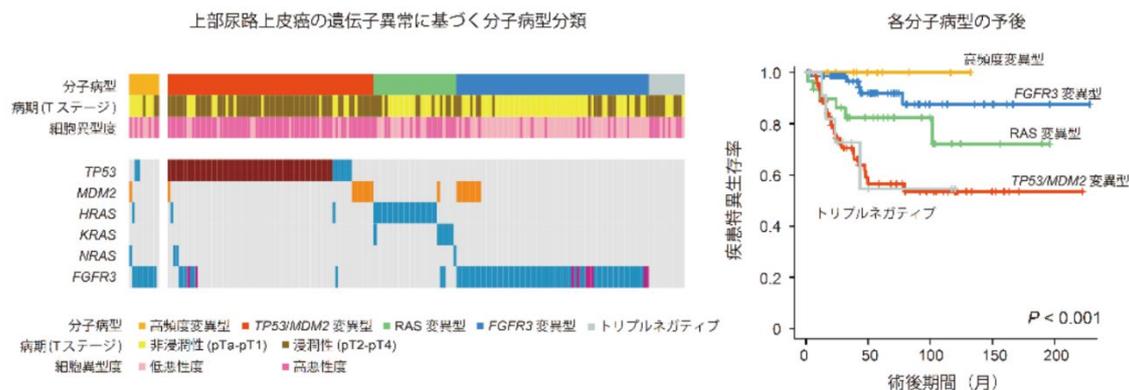


図2：上部尿路上皮がんの分子病型分類及び各病型の生存率

本研究では遺伝子変異の同定だけでなく、染色体数の異常(コピー数異常)、遺伝子発現、及びエピジェネティックな異常(DNAのメチル化)についても解析を行い、各病型の分子学的な特徴を評価した(図3)。これらの解析の結果、TP53/MDM2 変異型やトリプルネガティブはコピー数異常が多く、RAS 変異型はCpG アイランドと呼ばれる遺伝子発現の制御領域のメチル化が亢進している傾向にあった。また、遺伝子発現解析の結果、TP53/MDM2 変異型は免疫チェックポイント分子を含む免疫関連遺伝子の発現が高い傾向にあり、免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性が示唆された。

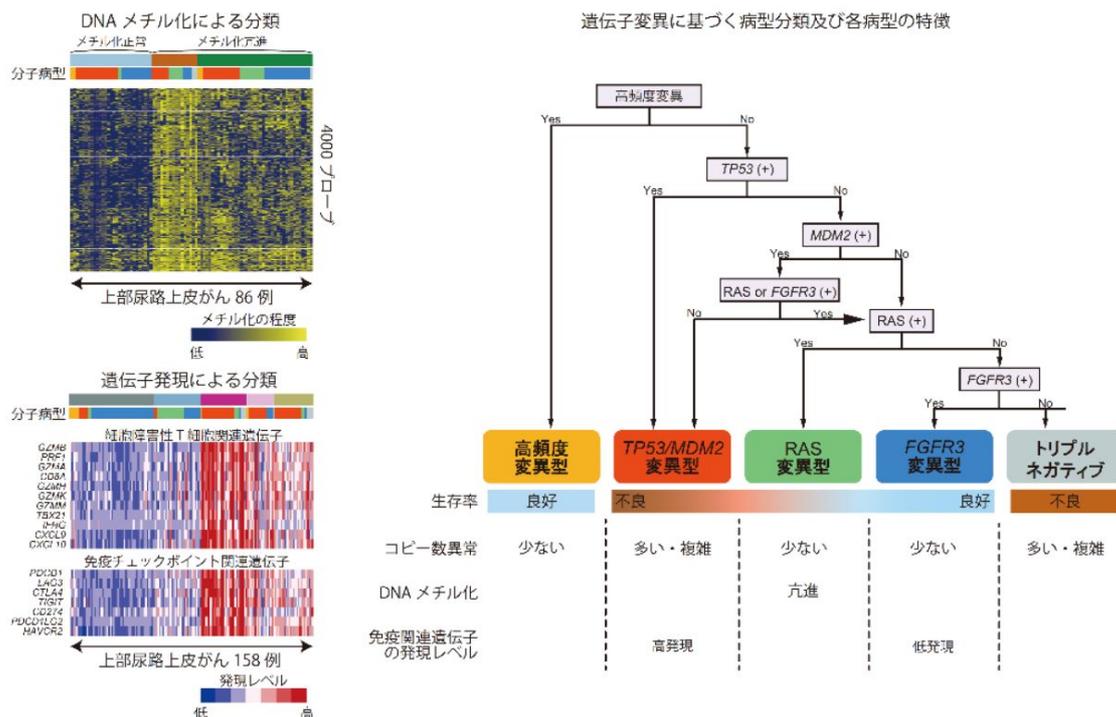


図3：上部尿路上皮がんのマルチオミクス解析

(3) 尿中の遺伝子変異の検出による上部尿路上皮がんの診断

上述の通り、既存の方法による上部尿路上皮癌の診断は非常に困難である。そこで本研究では尿中に脱落してくる癌細胞に注目し、尿から癌の遺伝子異常を検出することを試みた。上部尿路上皮癌 78 例の術前に採取した尿から DNA を抽出し、遺伝子異常の検出を試みたところ、82.2%の症例で癌組織と同一の遺伝子異常が認められた(図 4)。これは尿細胞診による感度(32.9%)よりも有意に高い値であった。また、これらの遺伝子異常は術後に採取した尿や上部尿路上皮癌以外の疾患の患者さんから採取した尿からは全く認められなかった。これらのことから、尿中の遺伝子異常を調べることにより、患者に負担のかからない、高い精度の検査が可能となることが示唆された。

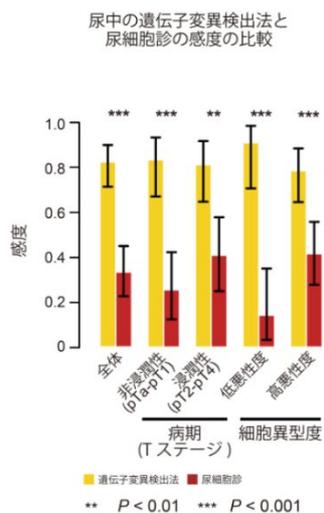


図 4：尿を利用した遺伝子変異検出と尿細胞診の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 藤井陽一、佐藤悠佑、鈴木啓道、川合剛人、森川鉄平、白石友一、中川徹、久米春喜、小川誠司他	4. 巻 39
2. 論文標題 Molecular classification and diagnostics of upper urinary tract urothelial carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Cell	6. 最初と最後の頁 793-809
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ccell.2021.05.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井陽一
2. 発表標題 上部尿路上皮癌の変異に基づく分子病型分類
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤井陽一
2. 発表標題 上部尿路上皮癌の変異に基づく分子病型分類とその臨床応用の可能性
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤悠佑
2. 発表標題 上部尿路上皮癌の分子病態とゲノム医療への展望
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤悠佑
2. 発表標題 網羅的ゲノム解析による腎盂尿管癌の分子病態の解明と、ゲノム異常に基づいた病型分類および個別化医療への応用に関する検討
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2019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		
米国	Memorial Sloan Kettering Cancer Center		