

令和 7 年 5 月 17 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K09457

研究課題名（和文）膀胱癌の再発診断における血漿および尿沈渣中変異DNAモニタリング

研究課題名（英文）The Clinical Validity of Urinary Pellet DNA Monitoring for the Diagnosis of Recurrent Bladder Cancer

研究代表者

露久保 敬嗣 (Tsuyukubo, Takashi)

岩手医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：50899359

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、膀胱癌に対する手術後の再発を早期に評価する手段として、尿中のがん関連DNAを測定する方法の有用性を検討したものである。非転移性膀胱癌32例を対象とし、手術後2年間、定期的に尿を採取し、DNAの変異頻度を解析した。多数例において、再発の数か月前からDNA変異の増加が確認され、従来の膀胱鏡検査や尿細胞診よりも早期の再発予測が可能であった。また、治療後にDNA量が低下した例では、その後の再発が認められず、治療効果判定にも有用であった。これらの結果から、尿中DNAの変化を追うことで、再発の早期発見、治療効果の評価、無再発の確認が可能となり、再発診断バイオマーカーとしての妥当性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、膀胱がんの再発を尿に含まれるDNA（upDNA）から高い精度で早期に検出できる方法を開発した。特定の遺伝子変異をデジタルPCRという技術で追跡することで、通常の画像検査よりも数か月早く再発の兆候を捉えられる可能性が示された。これは、一人ひとりの病状に応じた治療判断を支える新たな手段となりうる。再発の早期発見が進めば、治療の効果を高め、患者の負担を減らすとともに、医療資源の効率的な活用にもつながると期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to evaluate the clinical validity of using urine pellet DNA (upDNA), monitored by digital PCR (dPCR), as a new biomarker for early recurrence detection in bladder cancer (BC). Patient-specific mutations were monitored by dPCR in upDNA. In 32 patients, dPCR was performed at a mean of 7.2 time points (range: 2-12) for longitudinal monitoring. Clinical recurrence was assessed by imaging and urine cytology and was compared to trends in upDNA variant allele frequency (VAF). A continuously increasing upDNA VAF reaching 1% was defined as molecular recurrence. At least one somatic mutation was traceable in 30 of 32 cases (93.8%). Among 7 cases with clinical recurrence, 5 (71.4%) showed elevated upDNA VAF more than 7 months before clinical diagnosis. upDNA monitoring demonstrated clinical validity in 26 of 30 evaluable cases (86.7%). These findings support upDNA monitoring as a sensitive and practical tool for managing bladder cancer recurrence.

研究分野：膀胱癌

キーワード：膀胱癌 バイオマーカー 尿中DNA 遺伝子変異 再発早期予測 治療効果判定 無再発の確認 dPCR

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膀胱癌は再発率が非常に高く、初回治療後も長期間にわたり継続的な経過観察が求められる。特に非筋層浸潤性膀胱癌 (NMIBC) は、治療後の再発率が最大で 80% に達するとされ、再発・進行のリスク管理が重要である。これまでの標準的な術後検査である膀胱鏡検査や尿細胞診は、侵襲的かつ患者負担が大きいという課題を抱えており、加えて上部尿路や CIS の検出能に限界がある。これに対して、非侵襲的かつ定量的なモニタリング手法として、尿を用いた腫瘍 DNA の解析が注目されている。特に、尿沈渣に含まれる DNA (urinary pellet DNA : upDNA) は、腫瘍細胞由来の遺伝子変異を高精度で検出できる可能性があり、本研究では、患者特異的な変異を用いた dPCR による upDNA の経時的モニタリングが膀胱癌の再発検出に有用かどうかを検証した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、膀胱癌患者を対象に、尿沈渣 DNA (upDNA) 中の患者特異的な遺伝子変異をデジタル PCR (dPCR) で測定し、その変化を経時的に追跡することで、臨床的再発よりも早期に再発兆候を捉えられるかを評価することである。さらに、治療効果の判定や再発の否定にも upDNA が臨床的に有用であるかどうかについても検討した。

### 3. 研究の方法

対象は、筋層浸潤性または高リスク非筋層浸潤性膀胱癌の 32 例であり、腫瘍組織のパネルシーケンスにより同定した患者特異的な体細胞変異に基づき、個別に dPCR プローブを設計した。upDNA および ctDNA は、登録後最大 2 年間にわたって平均 7.2 時点 (計 230 検体) で採取・解析された。再発の有無は画像検査や尿細胞診により評価され、upDNA 中の変異アレル頻度 (VAF) との関連を調べた。VAF が連続して上昇し 1% 以上に達した場合を分子再発と定義し、臨床的再発と比較検討した。

### 4. 研究成果

本研究では、膀胱癌患者 32 例を対象に、尿沈渣 DNA (upDNA) 中の患者特異的な変異を dPCR で経時的に測定し、その変動を追跡することで再発を高感度に予測できるかを検討した。追跡可能な変異は 30 例 (93.8%) で同定され、平均 7.2 回 (2-12 回) の尿サンプルを用いてモニタリングを行った。その結果、臨床的再発を認めた 7 症例のうち 5 例 (71.4%) では、再発が画像検査や尿細胞診で確認されるよりも中央値で約 293 日前に、upDNA VAF が 1% 以上へと上昇し「分子再発」が検出された。一方、非再発症例では、upDNA VAF は一貫して低値に保たれており、再発の否定的指標としても有効であることが示された。また、TURBT や BCG 治療後の VAF 変化を解析することで、治療効果の評価にも利用可能であると考えられた。このような経時的モニタリングにより、従来の膀胱鏡による侵襲的検査の頻度削減や、個別化医療への応用が期待される。さらに、upDNA は血漿由来の ctDNA よりも感度が高く、膀胱癌の局所再発に対して優れた検出性能を示した。Figure 4 は、全症例における VAF 推移と臨床経過を一覧化し、再発・治療反応・非再発の 3 分類に分けて視覚的に示している。Figure 5 では、3 症例の詳細な dPCR モニタリング結果を提示し、それぞれ「早期再発予測 (ID\_05)」、「治療効果判定 (ID\_22)」

「非再発確認 (ID\_18)」の代表例として、upDNA および ctDNA VAF の経時的推移を示している。これらの結果は、非侵襲的かつ高精度な再発管理手法としての upDNA モニタリングの臨床的有用性を強く裏付けるものである。

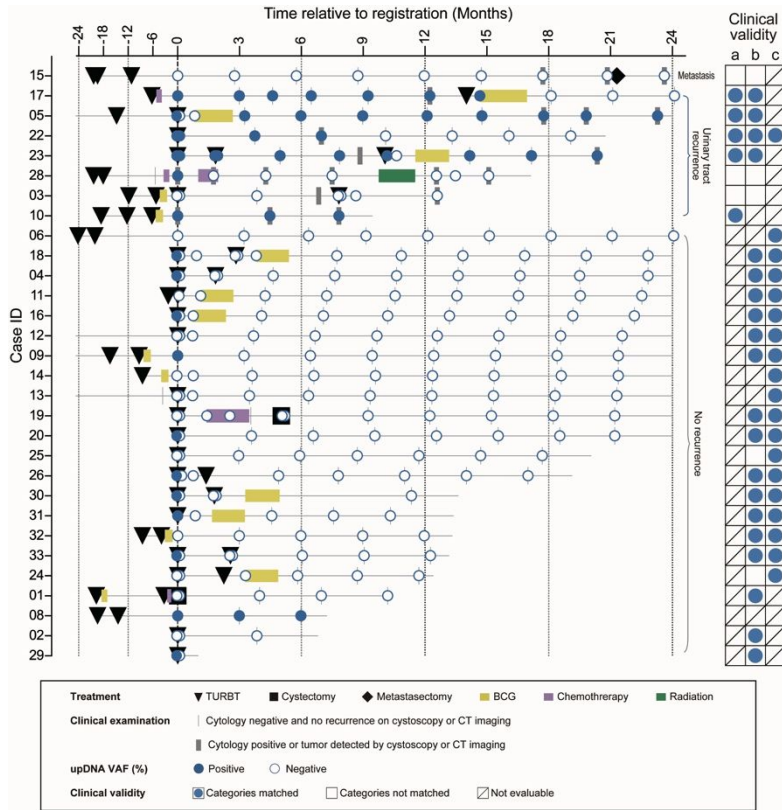


Figure 4 : upDNA VAF の経時的推移と再発の関係。全 32 例における治療経過、再発の有無、および upDNA VAF の変動を示す。再発例では 1%以上の VAF 上昇が診断前に確認され、非再発例では一貫して低値を維持していた。VAF 推移に基づき「早期再発予測」「治療効果評価」「非再発確認」の 3 分類に区分された。【Figure 5】3 症例における upDNA および ctDNA VAF の詳細な経時変化

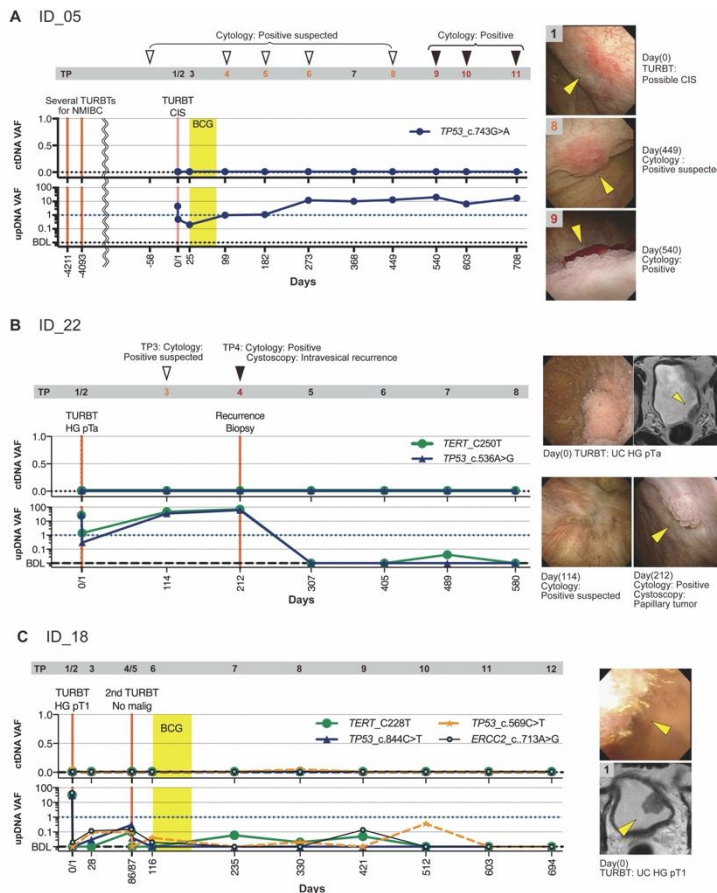


Figure 5 : 3 症例 (ID\_05, ID\_22, ID\_18) の VAF 推移。上段に ctDNA、下段に upDNA の VAF を示し、治療や再発のタイミングと対応している。(A) ID\_05 : 登録前後の TURBT と BCG 施行後も upDNA VAF が持続的に上昇し、Day(540)に臨床再発を確認。(B) ID\_22 : TURBT 後に upDNA VAF が上昇し、Day(212)に再発腫瘍を確認。(C) ID\_18 : TURBT 後の VAF 低下とともに長期間非再発を維持し、「非再発確認」の代表例である。

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 1件）

1. 著者名 Abe Masakazu, Hiraki Hayato, Tsuyukubo Takashi, Ono Sadahide, Maekawa Shigekatsu, Tamura Daichi, Yashima-Abo Akiko, Kato Renpei, Fujisawa Hiromitsu, Iwaya Takeshi, Park Woong-Yang, Idogawa Masashi, Tokino Takashi, Obara Wataru, Nishizuka Satoshi S.	4. 巻 26
2. 論文標題 The Clinical Validity of Urinary Pellet DNA Monitoring for the Diagnosis of Recurrent Bladder Cancer	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Molecular Diagnostics	6. 最初と最後の頁 278 ~ 291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmoldx.2024.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 阿部 正和、開 勇人、露久保 敬嗣、西塚 哲
2. 発表標題 膀胱癌再発診断における血漿および尿沈渣変異DNAモニタリングの臨床的妥当性
3. 学会等名 第7回 リキッドバイオプシー研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masakazu Abe, Hayato Hiraki, Takashi Tsuyukubo, Satoshi Nishizuka
2. 発表標題 The clinical validity of urinary pellet DNA monitoring of recurrent bladder cancer
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 阿部 正和
2. 発表標題 Clinical validity of plasma and urinary pellet DNA monitoring for the diagnosis of recurrent bladder cancer
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部 正和
2. 発表標題 The clinical validity of urinary pellet DNA monitoring of recurrent bladder cancer
3. 学会等名 American Association for Cancer Research 2023 Annual Meeting
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 阿部 正和
2. 発表標題 The clinical validity of urinary pellet DNA monitoring of recurrent bladder cancer
3. 学会等名 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 膀胱癌に関連した変異DNAの分析方法、並びにそのためのデジタルPCR用プライマー及びプローブ	発明者 西塚 哲、阿部 正和	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、6544783	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究分担者	西塚 哲 (Nishizuka Satoshi) (50453311)	岩手医科大学・医歯薬総合研究所・特任教授  (31201)	
研究分担者	小原 航 (Wataru Obara) (90337155)	岩手医科大学・医学部・教授  (31201)	

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
---------	---------