

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18093

研究課題名(和文) 扁平上皮分化を伴う浸潤性膀胱癌におけるJAG1の役割の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the role of JAG1 in muscle invasive bladder cancer with squamous differentiation

研究代表者

池田 健一郎 (Kenichiro, Ikeda)

広島大学・病院(医)・助教

研究者番号：50624863

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)：扁平上皮分化を伴う膀胱癌は、進行した病態に関連すると報告されているが、治療感受性に関する報告は一定の見解を得ていない。今回我々は、扁平上皮分化を伴う膀胱癌でNOTCHリガンドであるJAG1発現が高いことを同定し、JAG1と扁平上皮分化に着目し研究を行った。JAG1高発現はTNFシグナル増強と関連することが示唆され、化学療法や免疫療法コホートにおいて、JAG1高発現は治療抵抗性予測マーカーとなり得ることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ゲノム医療やビッグデータを用いた個別化医療が身近なものとなりつつある現状において、筋層浸潤膀胱癌患者において、術前の組織を用いた化学療法感受性や抵抗性を事前に知り得ることは不要な化学療法による、手術待機時間の短縮や合併症発生率の低下につながる。

膀胱癌患者の個別化治療に向けた重要な知見の一つとなり得る。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the role of JAG1 in squamous differentiation, a common histological subtype of muscle invasive bladder cancer, focusing on JAG1, a ligand of the NOTCH signaling pathway. Gene expression analysis and histopathological studies were conducted. Gene expression analysis of MIBC in untreated and preoperative chemotherapy cohorts suggested an association between high JAG1 expression and enhanced TNF signaling. In the preoperative chemotherapy and additional immune checkpoint therapy cohorts, high JAG1 expression was suggested to be a predictive marker of therapeutic resistance. It will be interesting to clarify how ligand JAG1 expression is associated with receptor NOTCH signaling activity and related to prognosis and treatment response.

研究分野：泌尿器腫瘍

キーワード：膀胱癌 扁平上皮分化 JAG1

## 1. 研究開始当初の背景

がんゲノム研究の進展により、浸潤性膀胱癌(MIBC)においてもシーケンス結果に基づくサブタイピングがTCGA研究をはじめとして数多く報告されMIBCの分子特性の理解を深めるとともに、個別化治療の応用へと進化しつつある。しかしながら適切な集学的治療にもかかわらず、治療の奏効率は約50%に留まっており、分子特性を踏まえたMIBCのサブタイピングならびに新規治療の確率が喫緊の課題と言える。

病理組織学的に扁平上皮分化を伴うMIBCは、最も多い組織型とされる尿路上皮癌と比較して、より進行した腫瘍に関連していることが複数報告されている。実際にTCGAのMIBCコホートの事前解析では、扁平上皮分化を伴う基底型サブタイプ腫瘍は、その他の腫瘍と比較し優位に予後不良であった。また、扁平上皮分化を伴う基底型サブタイプではJAG1 mRNA発現が有意に高値であった( $p < 0.001$ )。しかしながら、これらの腫瘍における従来の化学療法に対する感受性・抵抗性ならびに治療成績に関する報告は一定の見解を得ておらず、扁平上皮分化を伴う膀胱癌の分子生物学的理解が急務である。

NOTCH経路は保存された細胞表面シグナル伝達経路であり、種々の膜結合リガンドおよび膜貫通受容体の結合により活性化される。膀胱癌においては、NOTCH1は腫瘍抑制因子として、NOTCH2は癌遺伝子として様々なNOTCH受容体が相反する役割を果たすと報告されている。一方で、特定のリガンドに媒介されるNOTCH経路活性化がもたらす膀胱癌における生物学的効果については殆ど知られていない。自験例の免疫組織化学染色による解析ならびに公共データベースを用いた解析により、扁平上皮分化を伴う基底型サブタイプ腫瘍でNOTCHリガンドの一つであるJAG1発現が高いことを同定した。他領域の研究において、同一のNOTCH受容体に作用するにも関わらず、異なるリガンドが完全に異なる転写応答を引き起こす可能性があることが報告されており、膀胱癌において、特定のリガンドJAG1により媒介されるNOTCH経路活性化が扁平上皮分化を引き起こす主要な分子基盤であると仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、MIBC手術検体ならびに膀胱癌細胞株を用い、以下を解明することである。

- [1] MIBC検体におけるJAG1ならびにNOTCH受容体発現パターン
- [2] JAG1がNOTCH受容体シグナル経路に及ぼす影響と扁平上皮分化との関連
- [3] JAG1駆動性NOTCHシグナル活性化が化学療法の感受性に及ぼす効果

## 3. 研究の方法

自験例ならびにTCGAに代表される利用可能な公共データベースの臨床情報並びにゲノム情報を収集し、NOTCHシグナル伝達経路のリガンドの一つであるJAG1に着目し、遺伝子発現解析ならびに病理組織化学的検討を行うことにより、扁平上皮分化を伴う膀胱癌におけるJAG1機能の役割について検討した。

## 4. 研究成果

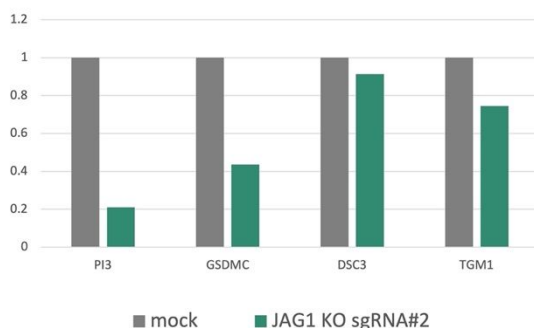
- [1] MIBC検体におけるJAG1ならびにNOTCH受容体発現パターン

術前化学療法(NAC)施行前のMIBCコホート( $n=150$ )における膀胱癌組織中、mRNA発現別のサブタイピングを行い、扁平上皮分化が特徴の一つとされる基底型サブタイプ腫瘍48例の組織マイクロアレイ(TMA)を用いてJAG1発現を免疫組織化学で評価したところ、JAG1陽性部分に有意に扁平上皮分化を認めた。このことから、膀胱癌組織におけるJAG1発現が扁平上皮分化と関連することが明らかとなった。

- [2] JAG1がNOTCH受容体シグナル経路に及ぼす影響と扁平上皮分化との関連

膀胱扁平上皮癌細胞株であるUM-UC6を用いドキシサイクリン誘導性JAG1欠失モデルを作製し、各種扁平上皮マーカー発現を評価した。膀胱扁平上皮癌細胞株においてJAG1欠失は扁平上皮マーカー遺伝子発現の低下と関連を認めた(図1)。

図1 JAG1欠失による各種扁平上皮マーカーの変動

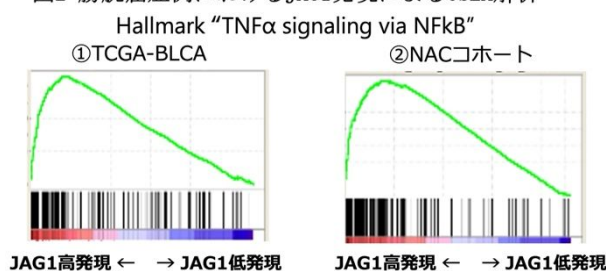


[ 3 ] JAG1 駆動性 NOTCH シグナル活性化が化学療法の感受性に及ぼす効果

研究計画を若干変更し、昨今公共データとして入手可能となった、化学療法や免疫療法を施行されたMIBC症例におけるRNA-Seqデータの解析を行い、[1]で使用した患者検体で得られたデータとの整合性を検証した。

化学療法未治療のTCGAコホートならびに術前化学療法(NAC)コホートのいずれのGSEA解析においても、JAG1高発現症例ではJAG1低発現症例と比較して、“TNF signaling via NFkB”関連遺伝子群の発現が有意にEnrichしていた(図2)。

図2 膀胱癌症例におけるJAG1発現によるGSEA解析



これまでの解析によりJAG1は扁平上皮分化を伴う浸潤性膀胱癌に高発現しており、JAG1高発現症例は予後不良であった。腫瘍サンプルの遺伝子発現情報からはTNFシグナルとの関連が示唆された。

追加の検討として、研究期間中に、化学療法と同様に近年進行膀胱癌に対して使用されることが増加してきた免疫チェックポイント阻害剤を用いられた臨床試験のコホートにおけるJAG1発現を評価した。進行膀胱癌に対するAnti-PD-L1 (atezolizumab)コホートにおける治療反応群と治療抵抗性群の比較においてJAG1は有意に治療抵抗性群で高発現していた。化学療法と同様に、免疫チェックポイント療法においてもJAG1高発現は治療抵抗性の予測因子となりうることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>池田 健一郎                        |
| 2. 発表標題<br>扁平上皮分化を伴う浸潤性膀胱癌におけるJAG1の役割の解析 |
| 3. 学会等名<br>第73回西日本泌尿器科学会総会               |
| 4. 発表年<br>2021年                          |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|
|---------|---------|