

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：31201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18099

研究課題名(和文)陰茎癌における発癌メカニズムおよびヒトパピローマウイルスの関連の解明

研究課題名(英文)Elucidation association between penile cancer and human papillomavirus using whole genome sequencing

研究代表者

前川 滋克(Maekawa, Shigekatsu)

岩手医科大学・医学部・特任講師

研究者番号：40774039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：陰茎癌2例とそれに対応する症例の正常検体からそれぞれDNAを抽出し、全ゲノムシーケンスを行った。陰茎癌2例のゲノム異常は81103個みつき、1例当たりでは43416個と37687個であった。そのうちタンパク質コード領域内の異常は306個(1例当たり201個および105個)であった。フレームシフトが起こる塩基の挿入が2個(1個、1個)、フレームシフトが起こる欠失が2個(2個、0個)、フレームシフトが起こらない欠失が4個(3個、1個)、ストップコドンに変わる変化が5個(5個、0個)であった。ゲノム構造異常は275か所で見つかり、1症例当たり182、93か所であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

陰茎癌のwhole genome sequencingを用いたゲノムワイド解析はいまだされておらず、本研究が草分け的な研究である。陰茎癌の病態の解明および他のヒトパピローマウイルス(HPV)関連癌と比較することは非常に有用と考える。今後も継続して陰茎癌のwhole genome sequencingを用いたゲノムワイド解析を行いHPVとの関係について解明していく。

研究成果の概要(英文)：We extracted DNA from two penile cancer and normal specimen of the case corresponding to it, respectively, and conducted all genome sequences.

81,103 genomic aberrations of two penile cancer were found and were 43,416 and 37,687 per patient. 306 abnormality (201 and 105) in the protein coding region of those. Two insertion (one and one) which frame shift mutation happens, two deletion (two and 0) that frame shift mutation occurs, four deletion (three and one) that frame shift mutation does not occur and five changes (five and 0) which cause stop codon were detected. The genome structural abnormality was found in 275 places and was 182, 93 places per 1 case.

研究分野：泌尿器科

キーワード：陰茎癌 ゲノム

1. 研究開始当初の背景

陰茎癌においては遺伝子発現を解析した報告は複数あり、発現レベルでターゲット遺伝子の同定はされている (S. Rodney et al. *Curr Probl Cancer* 2015)。しかし、ゲノムワイド解析はいまだされておらず、陰茎癌の病態の解明および他の HPV 関連癌と比較することは非常に有用と考える。

2. 研究の目的

陰茎切除後は性交が不能になるだけでなく、精神的にもケアが必要になることが多い。そのため、診断や予後予測そして治療のマーカーになりうる遺伝子標的の発見は陰茎癌にとって切望される場所である。そこで、陰茎癌において網羅的なゲノム解析を行い HPV が感染するタンパクの同定を試みることで、そして HPV 非感染陰茎癌の病態解明を目的とする。

3. 研究の方法

【対象】陰茎癌の診断で陰茎切除術を施行した症例のうち、手術摘除検体を凍結保存できる症例およびパラフィンブロックから腫瘍部および正常部それぞれから DNA の抽出が可能だった症例を対象とする。ただし、正常部の DNA は末梢血から採取したのも可とする。

【リアルタイム PCR 法】DNA を抽出した症例はすべてリアルタイム PCR 法にてヒトパピローマウイルス (HPV) をスクリーニングする。

【全ゲノムシーケンス】腫瘍とそれに対応する正常 DNA について、全ゲノムシーケンスを行い、変異および HPV の感染部位とタイプの検出を行う。HPV のスクリーニング陽性、陰性それぞれ 5 症例を目標にシーケンスする。

【次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス】全ゲノムシーケンスの結果から得られた変異の確認および検索を目的として、サンプル数を増やしターゲットシーケンスを行う。

【機能解析】ターゲットシーケンスの結果から陰茎癌の発症・進行に関係するマーカーとして候補となり得る多症例間で共通する変異について、そのタンパクに適した機能解析を行う。

【倫理的配慮】本研究は岩手医科大学の研究倫理審査委員会の承認を受けた上で施行する。

4. 研究成果

これまでに陰茎癌 2 例とそれに対応する正常検体からそれぞれ DNA を抽出し、全ゲノム

シーケンスを行った。その結果、陰茎癌 2 例のゲノム異常は 81103 個みつきり、1 例当たりでは 43416 個と 37687 個であった。そのうちタンパク質コード領域内の異常は 306 個（1 例当たり 201 個および 105 個）で、ミスセンス変異は 181 個（123 個，58 個），サイレント変異は 77 個（49 個，28 個），フレームシフトが起こる挿入が 2 個（1 個，1 個），フレームシフトが起こる欠失が 2 個（2 個，0 個），フレームシフトが起こらない欠失が 4 個（3 個，1 個），ナンセンス変異が 5 個（5 個，0 個）であった。ゲノム構造異常は 275 か所でみつきり、1 症例当たり 182，93 か所であった。

HPV の検出を試みたところ、遺伝子変異が少なかった後者の症例にのみ認められ、HPV の挿入部位は *KLF5* という遺伝子の上流であり、*KLF5* の発現に影響している可能性も示唆された。*KLF5* は Krüppel 型転写因子ファミリー (KLF) と呼ばれる転写因子群の一つで、特徴的な構造を持った転写因子群であり、個体の発生、細胞分化あるいは癌を含む病態の形成に重要であることが知られている。*KLF5* は、*KLF4* と共に iPS 細胞の作製や、人工的幹細胞が幹細胞の性質を維持していくのに必要であることがわかっている。*KLF5* 遺伝子は、乳癌、肺癌、子宮内膜癌、大腸癌、膀胱癌、前立腺癌など様々な癌で報告があるが陰茎癌での報告はなく、子宮頸癌では HPV が *KLF5* と *KLF12* に感染しているのは古くから知られており、*Nature genetics* 2015 の報告でも *KLF5* に 6.8% の頻度で認めていた。そして、135 例（前癌病変含む）の全ゲノム解析で 3666 か所のブレイクポイントがあったことと比べ、陰茎癌における今回の結果ではブレイクポイントが非常に少なくインパクトのある結果であった。

以上より、2 症例間ではゲノム異常およびゲノム構造異常の数に大きな開きがあり、異常が少ない症例でのみ HPV が検出されたことから、陰茎癌の発症形態は症例により違いがあることが推測された。

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Todd A Johnson, Shigekatsu Maekawa, Masashi Fujita, Jisong An, Young-Seok Ju, Kazuhiro Maejima, Yuki Kanazashi, Ryosuke Jikuya, Yuki Okawa, Shota Sasagawa, Ken Yagi, Yasushi Okazaki, Naoto Kuroda, Ryo Takata, Wataru Obara, Hidewaki Nakagawa	4. 巻 32(2)
2. 論文標題 Genomic features of renal cell carcinoma developed during end-stage renal disease and dialysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hum Mol Genet	6. 最初と最後の頁 290-303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/hmg/ddac180.	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 前川滋克
2. 発表標題 末期腎不全患者に発生した腎癌の網羅的ゲノム解析
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shigekatsu Maekawa
2. 発表標題 Genomic features of renal cell carcinoma developed during end-stage renal disease and dialysis
3. 学会等名 European Association of Urology 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shigekatsu Maekawa
2. 発表標題 Genomic features of renal cell carcinoma developed during end-stage renal disease and dialysis
3. 学会等名 AUA 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shigekatsu Maekawa
2. 発表標題 Genomic features of renal cell carcinoma developed during end-stage renal disease and dialysis
3. 学会等名 AACR 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shigekatsu Maekawa
2. 発表標題 Genomic features of renal cell carcinoma developed during end-stage renal disease and dialysis
3. 学会等名 第110回 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2023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
---------	---------