

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09390

研究課題名（和文）尿路上皮における遺伝子変異の蓄積と癌化のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanisms of accumulation of gene mutations and carcinogenesis in the urothelium

研究代表者

佐藤 悠佑（Sato, Yusuke）

東京大学・医学部附属病院・病院診療医（出向）

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）：東京大学医学部附属病院泌尿器科において腎尿管全摘除術を行った腎盂尿管癌の計10症例について、腫瘍部以外に非腫瘍部の尿路上皮粘膜を微小なサイズで採取し、尿路上皮に蓄積した遺伝子変異の検出を試みた。採取した検体からDNAを抽出し網羅的な遺伝子変異解析を行ったところ、一部の非腫瘍部尿路上皮からは、KMT2Dの遺伝子変異が検出された。これらの変異は、採取した部位によって異なる変異であり、それぞれの部位において独立にKMT2D遺伝子変異が生じていた。KMT2D遺伝子変異は尿路上皮癌において高頻度に検出される遺伝子変異であるが、癌の発生の前段階において、既にこれらの変異が生じていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌で生じている遺伝子異常やその起源を探索することは、癌の診断治療の発展を促すための重要な知見をもたらすと考えられている。本研究では尿路上皮において癌が発生する以前の段階での遺伝子異常を明らかにし、それによって尿路上皮癌の成り立ちやその原因を明らかにする手がかりを得ることができた。本研究がさらに発展することにより、尿路上皮癌の診断や治療だけではなく、予防のための方法が確立されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In a total of 10 cases of renal pelvis or ureteral cancer that underwent radical nephroureterectomy at Department of Urology, the University of Tokyo Hospital, we collected micro-sized samples of the urothelial mucosa in non-tumor areas besides the tumor area and tried to detect gene mutations that had accumulated in the urothelium. DNA was extracted from the collected specimens and a comprehensive genetic mutation analysis was performed, and KMT2D gene mutations were detected in some non-tumor area urothelium. These mutations were different mutations depending on the site from which they were collected, resulting in independent KMT2D gene mutations at each site. KMT2D mutations are frequently detected in urothelial carcinomas, suggesting that these mutations already occur at an earlier stage of cancer development.

研究分野：泌尿器腫瘍

キーワード：尿路上皮癌

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。これまでに我々の研究グループでは、腎盂尿管癌を対象に約 200 例の手術検体を収集し、網羅的なゲノム解析を行うことで腎盂尿管癌における分子病態の全体像を明らかにした(Fujii et al., *Cancer Cell*. 2021)。その結果、TP53 遺伝子変異、FGFR3 遺伝子変異、HRAS もしくは NRAS 遺伝子変異がほぼ排他的に存在し、このうち TP53 変異を有する群では高悪性度の腫瘍が多く予後が不良であることを示した。また、これらの遺伝子変異の状態によって遺伝子発現のプロファイルが異なっており、分子病態に基づいた症例の分類や予後予測が可能であり、治療法の選択の際にこの分類が有用となりうることを明らかにした。さらに、病理学的には同じ尿路上皮癌であっても、腎盂・尿管・膀胱のそれぞれの部位によって変異する遺伝子の特徴に違いがあることを示した。

このように、尿路上皮癌の分子病態の全体像が明らかになってきたことにより、その知見を診断や治療に活用するための基盤が整いつつある。一方で、がんの原因となるゲノム異常が、尿路上皮細胞において、どのような段階で生じ、どのような経過でクローン拡大が進行し最終的に癌が形成されるのかについては、十分に明らかにされていない。

近年、非癌部の組織を解析することにより、発癌に先立って生じるゲノム異常を明らかにする試みがなされている。例えば食道上皮では、食道癌で生じるとされる遺伝子変異が、加齢や飲酒・喫煙の影響により、癌ではない細胞に既に蓄積され始めていることが明らかにされた (Yokoyama et al, *Nature*. 2019)。尿路上皮癌は多中心性に多発するという特徴を有しており、そのメカニズムの 1 つとして、尿路上皮が尿中の発癌物質曝露されることにより複数の領域にまたがって広く発癌すること (field cancerization) が想定されている。尿路上皮に蓄積されるゲノム異常を検出し、尿路上皮癌がどのようにして発生するのか、喫煙などのリスク因子がどのようにして発癌に関わるのかを検討し明らかにすることによって、尿路上皮癌の早期診断や予防につながるような知見を得られることが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、癌が発生していない段階の尿路上皮において、どのようなゲノム異常が蓄積しているのかを明らかにすることを目的とする。膀胱癌や腎盂尿管癌において、網羅的なゲノム解析により分子病態を明らかにする研究は、申請者のグループの研究を含め数多くなされているが、発癌前の状態を明らかにしようとする研究は少ない。

本研究により、尿路上皮細胞がどのような過程を経てゲノム異常を蓄積させ、尿路上皮癌に至るのかを明らかにすることによって、加齢や喫煙などのリスク因子が尿路上皮癌の発生にどのように関わるか、新たな知見が得られると期待される。このことは、尿路上皮癌の早期診断や予防について検討する際に極めて重要であると考えられる。

3. 研究の方法

近年、大量並列シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子変異解析により、尿路上皮癌における遺伝子異常の実態が明らかにされている (Gui et al, *Nature Genetics* 2011, The Cancer Genome Atlas Research Network, *Nature* 2014)。これらの先行研究の成果を踏まえ、以下の点について明らかにする。

(1)非癌部の尿路上皮における遺伝子変異の検出

膀胱癌に対して膀胱全摘除術を行った症例や、腎盂尿管癌に対して腎尿管全摘除を行った症例を対象に、非癌部の粘膜を採取する。検体採取部に隣接した尿路上皮を病理学的に評価し、上皮内癌が生じていないことを確認する。また、尿路上皮癌ではない症例についても解析対象とするために、腎癌や後腹膜腫瘍のために腎摘除術を行った症例からも、腎盂尿管の粘膜を採取する。採取した組織は、顕微鏡下に注意深く尿路上皮のみを剥がし、粘膜下層や筋層が混入しないようにする。さらに、解析する尿路上皮のサイズが大きいと、遺伝子変異を有する細胞のクローン拡大が検出できない可能性が高いため、径 0.5~1mm 程度の大きさにパンチ生検し、ここから DNA を抽出する。抽出した DNA は、大量並列シーケンサーを用いて全エクソンまたは全ゲノムシーケンシングを行い、網羅的に遺伝子変異の検出を行う。これによって、癌が発生する前段階において、尿路上皮細胞に生じている遺伝子変異を明らかにし、尿路上皮癌で生じる遺伝子変異の特徴と比較することによって、発癌に至るまでにどのように遺伝子変異が蓄積されていくか、その過程を解明する。

(2)変異の signature 解析とリスク因子の関わり

DNA の配列は 4 種類の塩基からなっているが、遺伝子変異は、ある塩基が別の塩基に入れ替わることによって生じる（塩基置換）。この塩基置換のパターンには前後の塩基配列も考慮すると 96 通り存在する（mutational signature）。癌の種類や変異を惹起する因子によって、この signature のパターンに違いがあることがよく知られている。尿路上皮に生じている遺伝子変異について、どのような変異 signature のパターンが生じているかを解析することによって、尿路上皮細胞における遺伝子変異蓄積のメカニズムの一端が明らかにされると期待される。また、年齢や喫煙歴等との比較を行うことで、これらのリスク因子が尿路上皮癌の発生にどのように関与するかを明らかにする。

4 . 研究成果

東京大学医学部附属病院泌尿器科において腎尿管全摘除術を行った腎盂尿管癌の計 10 症例について、腫瘍部以外に非腫瘍部の尿路上皮粘膜を微小なサイズで採取し、尿路上皮に蓄積した遺伝子変異の検出を試みた。

採取した検体から DNA を抽出し網羅的な遺伝子変異解析を行ったところ、一部の非腫瘍部尿路上皮からは、KMT2D の遺伝子変異が検出された。これらの変異は、採取した部位によって異なる変異であり、それぞれの部位において独立に KMT2D 遺伝子変異が生じていた。KMT2D 遺伝子変異は尿路上皮癌において高頻度に検出される遺伝子変異であるが、癌の発生の前段階において、既にこれらの変異が生じてい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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 佐藤悠佑 |
| 2. 発表標題 がんゲノム医療の進展を支える基礎研究～がんゲノム解析について |
| 3. 学会等名 第87回日本泌尿器科学会東部総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名 佐藤悠佑 |
| 2. 発表標題 分子病態から考える尿路上皮がんの治療戦略 |
| 3. 学会等名 日本泌尿器腫瘍学会 第9回学術集会 |
| 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 |
|-------|---|------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 久米 春喜 (Kume Haruki) (10272577) | 東京大学・医学部附属病院・教授 (12601) | |
| 研究分担者 | 山田 大介 (Yamada Daisuke) (00623696) | 東京大学・医学部附属病院・講師 (12601) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 山田 雄太 (Yamada Yuta) (10376452) | 東京大学・医学部附属病院・講師 (12601) | |
| 研究分担者 | 秋山 佳之 (Akiyama Yoshiyuki) (20529135) | 東京大学・医学部附属病院・講師 (12601) | |
| 研究分担者 | 鈴木 基文 (Suzuki Motofumi) (50401063) | 地方独立行政法人東京都立病院機構東京都立墨東病院（臨床研究支援室臨床研究部）・泌尿器科・部長 (82817) | |
| 研究分担者 | 川合 剛人 (Kawai Taketo) (60343133) | 東京大学・医学部附属病院・講師 (12601) | |
| 研究分担者 | 中村 真樹 (Nakamura Masaki) (70805788) | 東京大学・医学部附属病院・届出研究員 (12601) | |

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 |
|---------|---------|
| | |