

令和 6 年 5 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16809

研究課題名（和文）尿路上皮癌分子サブタイプ分類に基づいた進行性尿路上皮癌の進展系統樹の作成

研究課題名（英文）Profiling the Molecular Characteristics and Transitions Through Upper Tract Tumor Origin, Bladder Recurrence, and Muscle Invasive Bladder Progression in Upper Tract Urothelial Carcinoma

研究代表者

茂田 啓介 (Shigeta, Keisuke)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・訪問研究員

研究者番号：10649875

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：腎盂尿管癌の術後膀胱内再発は一定頻度で起こり、稀にMIBCへ進展する。本研究では、腎盂尿管癌と膀胱内再発後の異所性・異時性再発における分子生物学的特徴を明らかにした。CK20とFGFR3の発現は膀胱内再発の独立した予測因子であり、FGFR3陽性例が高い傾向にあった。膀胱内再発症例では、p53変異蛋白の発現がMIBC進展群で有意に高かった。結果から、腎盂尿管癌はCK20陽性やFGFR3陽性のluminal-papillary typeで膀胱内再発する傾向があり、p53変異蛋白の発現が筋層進展に関連し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

これまで腎盂尿管癌患者の膀胱内再発リスク因子において、臨床病理学的因子の報告は多数行われてきたが、分子サブタイプを加えた再発リスク因子に関する知見は皆無であった。本研究から、CK20やFGFR3などの分子マーカーが膀胱内再発の予測因子となることが示されたこと、更にはp53変異蛋白の存在がMIBCへの進展と関連していたことから、分子サブタイプ別病理学的評価は、再発進展リスクの高い患者に対する治療方針の決定に重要な意義をい持つと考えている。また、将来的には腎盂尿管癌や膀胱内再発後患者における革新的創薬研究に寄与すると考える。

研究成果の概要（英文）：Postoperative bladder recurrence in renal pelvic and ureteral cancer, sometimes progressing to MIBC, poses challenges. This study tracks molecular characteristics of primary cancer and bladder recurrences. Among 214 patients post-nephroureterectomy, 92 had intravesical recurrence. CK20 and FGFR3 were predictive markers for recurrence. FGFR3 positivity was higher (60.9%) in recurrence cases. MIBC progression was associated with elevated p53 mutant protein expression. Renal pelvic and ureteral cancers tend to recur intravesically, especially luminal-papillary types with CK20 and FGFR3 positivity. Recurrent bladder cancer inherits molecular features from the primary tumor, with additional p53 mutant protein expression linked to muscle invasion.

研究分野：上部尿路上皮癌

キーワード：上部尿路上皮癌 膀胱内再発 CK5/6 CK20 FGFR3 P53

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

2.

尿路上皮癌 (Urothelial Carcinoma) は尿路上皮粘膜内に発生する悪性新生物であり、年間約 2.5 万人が罹患し、8500 人が死亡する難治癌の 1 つである。その多くは膀胱粘膜内に発生する一方で腎盂尿管内粘膜には UC 全体の約 5% 程度に発生するとされ、比較的稀とされている。腎盂尿管癌は根治術として腎尿管全摘除術が gold standard とされるが術後約 30-40% 程度に膀胱内腔内再発を来す。その多くは経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TUR) で制御可能な一方、まれに筋層浸潤 (Muscle-invasive bladder cancer: MIBC) 癌へと進展する。腎盂尿管原発癌と膀胱原発膀胱癌はその組織内癌細胞の形態学的類似性から同一性質を持つ癌腫として扱われ、診断や治療レジメンに至るまで同等として扱われてきた。しかし、近年の次世代シーケンサー (NGS) を用いた癌ゲノム研究の進歩により、腎盂尿管原発と膀胱原発 UC では driver となる癌変異遺伝子が異なる事が示唆され、両者の分子生物学的特徴が異なることが明らかになってきた。

特に腎盂尿管癌は術後膀胱内腔内再発を来し、TUR 治療後もまれに MIBC へと進展するが、原発癌の分子生物学的特徴が再発進展に至るまで連続性を認めるかについては未だ不明のままであった。UC は空間的・時間的多様性に富み、腫瘍内不均一性 (Intratumor heterogeneity: ITH) を保ちながら膀胱内で再発・進展を繰り返すため、経時的な癌サブクローンの分子生物学的特徴の追跡は喫緊の課題といえる。そこで、本研究は腎盂尿管癌原発の UC、膀胱内再発後 UC、そして筋層浸潤性膀胱癌進展 UC (Muscle invasive Bladder Recurrence) 3 種の癌病態を臨床病理学的に追跡し、各種分子マーカーに基づいた経時的な癌再発進展系統樹の作成を試みた。

2. 研究の目的

本研究は、腎盂尿管癌原発の UC、膀胱内再発後 UC、そして筋層浸潤性膀胱癌進展 UC (Muscle invasive Bladder Recurrence) における分子マーカー分類に基づいた経時的な癌再発進展系統樹を作成し、難治性 UC 患者への新規バイオマーカーの探索および治療標的の同定を目的とする。

3. 研究の方法

① ヒト腎盂尿管癌手術後臨床検体のマイクロアレイ (Tissue Micro Array: TMA) の作成

TMA は病理検体の一部が多数例 1 枚のスライド上に集積するため個々の病理検体の染色範囲は限定的となるが抗体や染色条件による差異が少なく、正確かつ均一で簡便な免疫組織学的検索を短期間で実行可能であることから、各種バイオマーカーを免疫組織化学染色を行った後に解析装置 (Histo Quest) で自動化されたシングルセルカウントを実施することで、定量評価を行いたいと考えた。

② 腎盂尿管癌臨床組織検体を利用した分子マーカーによるサブクラス分類 (FGFR3 p53 CK5/6 CK20 CK7) に基づいた新しい癌進展系統樹の作成

腎盂尿管癌は腎盂尿管粘膜に発生後、膀胱内粘膜、筋層進展へと癌の再発進展が尿路上皮内でのみ起こるという特殊性があり、尿路上皮内に発生した腫瘍を手術で除去するため原発発生から再発、進展にかけて sequential な臨床組織検体を比較検討する事ができる。左記の特殊性を生かし、すでに予備的検討として腎盂尿管原発の UC では、悪性度の低い癌では CK20 が CK5/6 と比較し有意であること、FGFR3 蛋白が有意な発現亢進を認める一方、p53 蛋白の発現は稀であることを確認している (Shigeta *Cancer Science* 2021)。一方、膀胱内再発後 UC、MIBC 進展症例では FGFR3 蛋白の有意発現に加え CK5/6 と p53 変異蛋白発現が増生してくることを確認した (図 2 上段)。上記 NGS 解析より得られた知見を加える形で癌の起源解析を進め、腎盂尿管癌が MIBC 進展に至るまでの過程を分子マーカーにより細分化し (Basal/Luminal Type あるいはそれ以外)、腎盂尿管癌の膀胱内再発/進展機構を解明したいと考えた。

#### 4. 研究成果

##### ① ヒト腎盂尿管癌手術後臨床検体のマイクロアレイ作成とその解析

当教室で 2000 年から 2018 年までに腎盂尿管癌に対して腎尿管全摘除術を受けた 214 例の上部尿路上皮癌検体(腎盂癌 116 例、尿管癌 98 例)を用いて、臨床組織から病理学的に腫瘍中心部(Center of tumor: CT)・腫瘍辺縁部(Invasive margin: IM)を抽出し、腫瘍内不均一性を克服する組織マイクロアレイ(Tissue Microarray)を作成した。次に、腎尿管癌原発組織検体 214 例の CD5/6 CK20 FGFR3 p53 蛋白の免疫組織学染色を行い、膀胱内再発の再発リスク因子の同定を行った。結果、腎盂尿管癌原発癌における CK20 高陽性群において優位に膀胱内再発が高いことを確認した(図 1)。

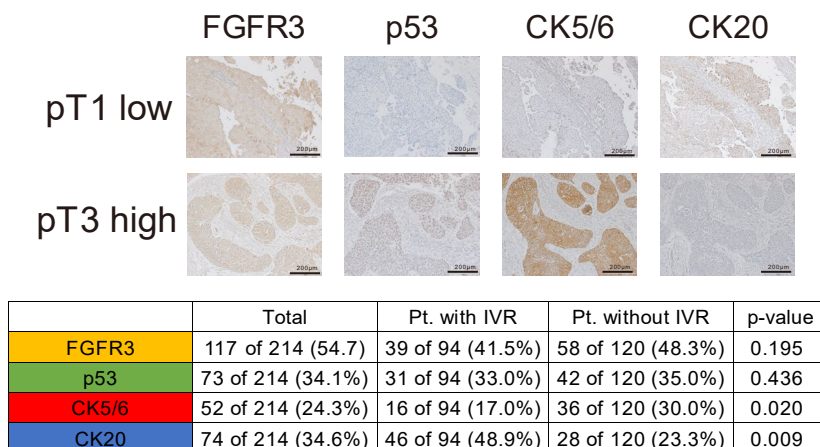
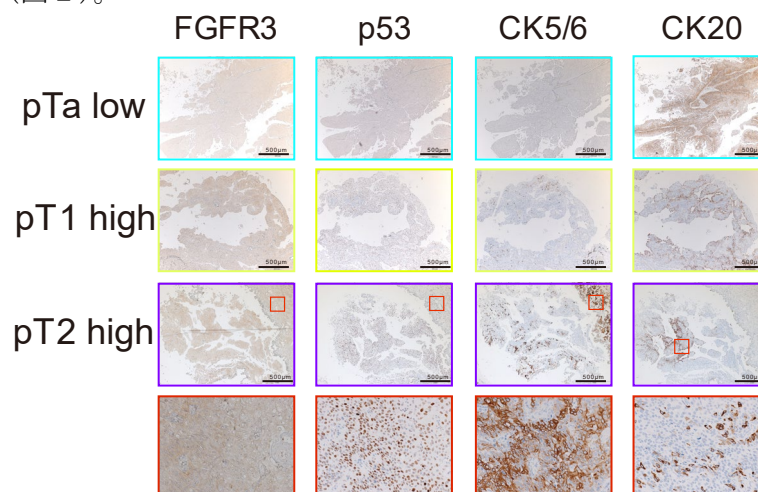


図 1: 腎尿管癌原発組織検体 214 例の CD5/6 CK20 FGFR3 p53 蛋白 の免疫組織学染色とその染色結果

##### ② 膀胱内再発後臨床検体における筋層進展リスク因子の同定

次に膀胱内再発をした 9 2 例の膀胱癌の臨床検体にたいし、CD5/6 CK20 FGFR3 p53 蛋白 4 因子を免疫組織学染色を行った所、腎盂尿管癌術後膀胱内再発症例では、筋層進展するにつれて、p53 蛋白の増生をみとめ、CK5/6 発現と CK20 発現の逆転化(luminal-basal shift)を認めるようになった。一方、原発組織から見られた FGFR3 発現は膀胱内再発後、筋層進展にいたるまでその分子生物学的特徴は継承される傾向にあった(図 2)。



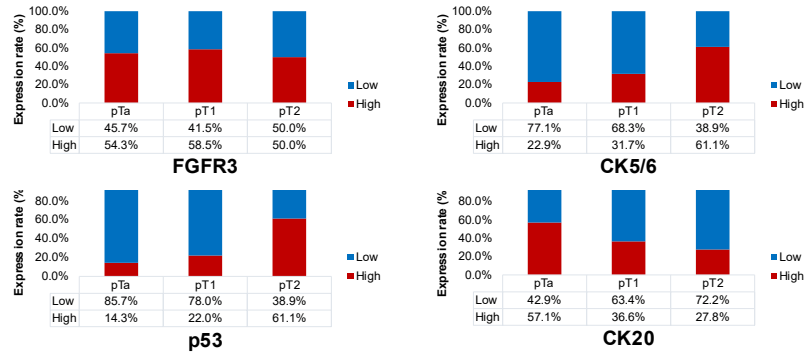


図 2：術後膀胱内再発 9 2 例における CD5/6 CK20 FGFR3 p53 蛋白 4 因子の免疫組織学染色結果と各 4 種マーカー発現の変遷

### ③ 腎盂尿管癌原発 MIBC 癌と膀胱原発 MIBC 癌における分子サブタイプの違いと進展系統樹の作成

最後に我々は、原発が上部尿路由来か膀胱由来かにおいてその分子サブタイプの特徴の違いを検証した。結果、腎盂尿管癌由来の MIBC は膀胱原発に比べ優位に FGFR3 発現が高い傾向にあり、またそのような MIBC 群は膀胱原発癌と比較し、予後良好な傾向があった (図 3)。

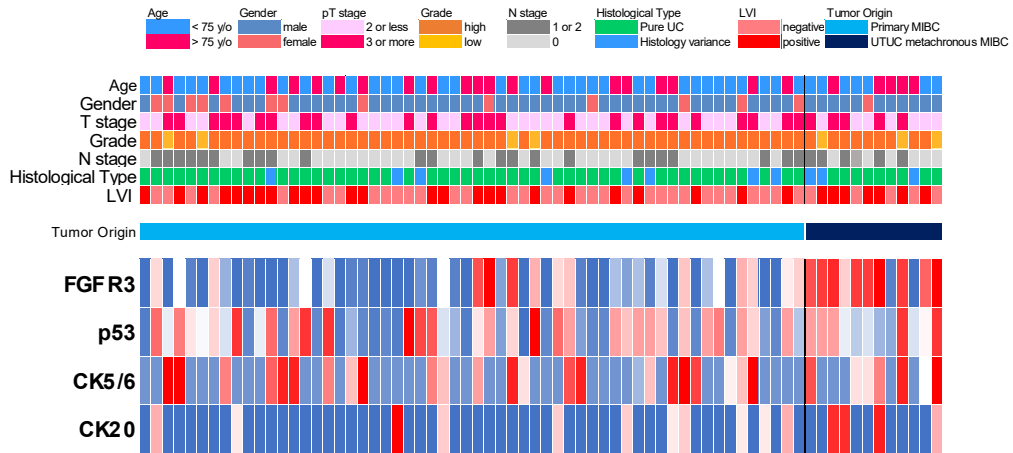


図 3：腎盂尿管癌原発 MIBC 癌と膀胱原発 MIBC 癌における分子サブタイプの違い

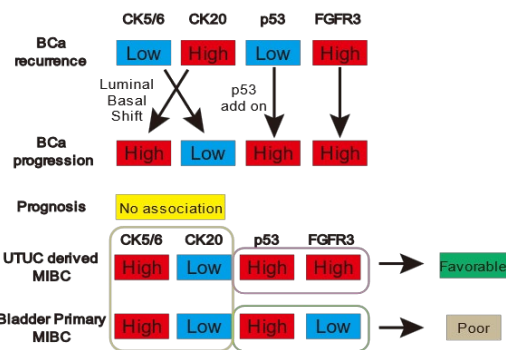


図 4：上部尿路上皮癌術後膀胱内再発後筋層進展に至るまでの進展系統樹

以上の結果から、腎盂尿管癌は CK20 陽性、FGFR3 陽性に代表される luminal-papillary type において膀胱内再発を認める傾向があり、その分子生物学的特徴は再発後膀胱癌検体に継承される一方で、p53 変異蛋白発現の add on により筋層進展することが見いだされた (図 4)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. Profiling the Biological Characteristics and Transitions through Upper Tract Tumor Origin, Bladder Recurrence, and Muscle-Invasive Bladder Progression in Upper Tract Urothelial Carcinoma.

Shigeta K (first author), Matsumoto K, Tanaka N, Mikami S, Kosaka T, Yasumizu Y, Takeda T, Mizuno R, Kikuchi E, Oya M. *Int J Mol Sci.* 2022; 23:5154. doi: 10.3390/ijms23095154. (査読あり)

2. Does neoadjuvant chemotherapy have therapeutic benefit for node-positive upper tract urothelial carcinoma? Results of a multi-center cohort study.

Shigeta K (first author), Matsumoto K, Ogihara K, Murakami T, Anno T, Umeda K, Izawa M, Baba Y, Sanjo T, Shojo K, Tanaka N, Takeda T, Morita S, Kosaka T, Mizuno R, Arita Y, Akita H, Jinzaki M, Kikuchi E, Oya M. *Urol Oncol.* 2022; 40:105e19-26. (査読あり)

3. The clinicopathological characteristics of muscle-invasive bladder recurrence in upper tract urothelial carcinoma. (査読あり)

Shigeta K (first author), Matsumoto K, Ogihara K, Murakami T, Anno T, Umeda K, Izawa M, Baba Y, Sanjo T, Shojo K, Tanaka N, Takeda T, Kosaka T, Mizuno R, Mikami S, Kikuchi E, Oya M. *Cancer Sci.* 2021; 112:1084-94. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

1.

尿路上皮癌分子サブタイプ ( CK5/6, CK20, FGFR3, p53 ) 分類に基づいた腎盂尿管癌術後膀胱内再発および進展系統樹の作成

茂田啓介 1 松本一宏 安水洋太 田中伸之 武田利和 森田伸也 小坂威雄 水野隆一 浅沼宏 大家基嗣

第109回日本泌尿器科学会総会

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 1件）

1. 著者名 Shigeta Keisuke, Matsumoto Kazuhiro, Tanaka Nobuyuki, Mikami Shuji, Kosaka Takeo, Yasumizu Yota, Takeda Toshikazu, Mizuno Ryuichi, Kikuchi Eiji, Oya Mototsugu	4. 巻 23
2. 論文標題 Profiling the Biological Characteristics and Transitions through Upper Tract Tumor Origin, Bladder Recurrence, and Muscle-Invasive Bladder Progression in Upper Tract Urothelial Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5154 ~ 5154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23095154	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 -

〔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 茂田啓介 松本一宏 安水洋太 田中伸之 武田利和 森田伸也 小坂威雄 水野隆一 浅沼宏 大家基嗣
2. 発表標題 尿路上皮癌分子サブタイプ（CK5/6, CK20, FGFR3, p53）分類に基づいた腎盂尿管癌術後膀胱内再発および進展系統樹の作成
3. 学会等名 第109回 日本泌尿器学科総会
4. 発表年 2022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
---------	---------