

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670696

研究課題名(和文)尿路上皮癌における新規癌関連遺伝子の同定

研究課題名(英文)Identification of a novel cancer associated gene of urothelial cancer

研究代表者

西山 博之(Nishiyama, Hiroyuki)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：20324642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：多施設共同研究にて前向き登録制で尿路上皮癌症例の検体を収集し、表在性膀胱癌60例、浸潤性膀胱癌40例、転移性尿路上皮癌34例の50癌関連遺伝子の変異解析、FGFR3-TACC3融合解析を行った。FGFR3-TACC3融合はRNA-FISHにより5例で検出された。FGFR3遺伝子の変異は表在性の45%、浸潤性の18%、転移性の3%で検出され、既存の報告における頻度と概ね一致する結果が得られた。FGFR3の変異と融合は1例を除き排他であった。研究開始後3年間の予後調査を行う予定であり、遺伝子プロファイルと予後との関連についての検討も進めていく予定である。

研究成果の概要(英文)：We performed a prospective multi-center study to collect urothelial cancer (UC) patients. Analysed numbers patients were 60 of Non Muscle Invasive Bladder Cancer (NMIBC), 40 of Muscle Invasive Bladder Cancer (MIBC) and 34 of metastatic UC cases. Genomic DNA was extracted, and assessed the mutation status of the 50 cancer associated genes. FGFR3-TACC3 fusions were detected by RNA-FISH. Signals for FGFR3-TACC3 fusions by RNA-FISH were positive in 2/60 (3%) of NMIBC, 2/40 (5%) of MIBC and 1/34 (3%) of metastatic UC cases. FGFR3 mutations were detected in 27/60 (45%) of NMIBC, 8/40 (18%) of MIBC and 1/34 (3%) of metastatic UC cases. FGFR3 mutation and FGFR3-TACC3 fusion are mutually exclusive except for one case. The association between the presence of an FGFR3-TACC3 fusion gene and the prognosis of UC is still unclear. We plan to follow the subjects of this prospective study with detailed clinical information for three years.

研究分野：泌尿器科

キーワード：尿路上皮癌 遺伝子 変異 FGFR3 TACC3 融合 膀胱癌 SNP

1. 研究開始当初の背景

浸潤性尿路上皮癌は、一旦転移すると予後は2年生存率10%と極めて予後不良な疾患であり、新規分子標的治療薬の開発が急務である。近年の分子遺伝学的解析から尿路上皮癌の発癌・進展に *p53*・*Rb*・*PTEN*・*FGFR3*等のシグナル経路の重要性が分かってきた(Nature reviews, 2005, 5, 713-725)。特に *FGFR3*の活性型点変異や *RAS*変異は低悪性度非浸潤性癌において高頻度に見られることから、その標的分子の候補の一つとして期待されている(Carcinogenesis, 2006 Apr;27(4):740-7)。一方、筋層浸潤性尿路上皮癌では *p53*, *Rb*, *PTEN*などが古くから報告されているものの、残念ながら創薬につながる標的分子は見つかっていない。若年性肺癌において driver 遺伝子として *EML-ALK*融合遺伝子が同定されたが、近年、尿路上皮癌においても oncogenic 活性を有する *FGFR3-TACC3*融合遺伝子が尿路上皮癌細胞株で発現していることが報告された(Hum Mol Genet. 2013, 22, 795-803)。しかし、まだ *FGFR3-TACC3*融合遺伝子と病期や予後との関連性は明らかでない。そこで本研究では、*FGFR3-TACC3*融合遺伝子および既存癌関連遺伝子変異の癌ゲノム情報を基に、新規癌関連遺伝子(融合遺伝子を含む)の探索に関する研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

本研究を通して、尿路上皮癌の浸潤転移に関する癌関連遺伝子ネットワークを明らかにする事が出来、新規標的治療の開発につながると考えられる。更に、本研究では多施設共同研究・前向き登録制で検体を収集することにより、本研究期間終了後も研究を継続し、臨床病期、予後および上記遺伝子変異情報とが統合された臨床検体の研究基盤を構築する事が可能となる。尿路上皮癌は希少疾患であるため、このような臨床検体パネルの欠如が新規治療薬の開発の律側段階となっていたが、この問題を克服出来る点において臨床的意義が大きい。また *FGFR3*は尿路上皮癌のみならず肝癌等の他の癌種でも発現亢進が認められ、本研究から期待される成果の一つである *FGFR3*変異・*FGFR3-TACC3*融合遺伝子と他の癌原因遺伝子の変異の相関性は、広く癌治療の発展に寄与する事ができる。

3. 研究の方法

多施設共同研究にて前向き登録制で腫瘍検体を収集した。腫瘍組織試料から抽出したDNAを用いてシーケンスを行い、Ion PGM Cancer Hotspot Panel v2を用いて50癌関連遺伝子変異を同定した。*FGFR3-TACC3*融合遺伝子の検出はRNA-FISH法によって行った。臨床情報と *FGFR3*を含む癌関連遺伝子情報の解析結果は筑波大学次世代医療研究開発・教育統合セン

ター(CREIL センター)に集約し管理を行った。CREIL センターにおいて遺伝情報と臨床情報を適合させた情報を基に、本研究に参加する共同研究施設において統計解析を実施した。

4. 研究成果

最終的に表在性膀胱癌60例、浸潤性膀胱癌40例、転移性尿路上皮癌34例の遺伝子変異解析、*FGFR3-TACC3*融合解析が完了した。*FGFR3-TACC3*融合はRNA-ISHにより5例で検出された。代表的な1例のRNA-FISH画像、融合遺伝子転写産物のサンガーシーケンス法による配列の確認結果を図1に示す。

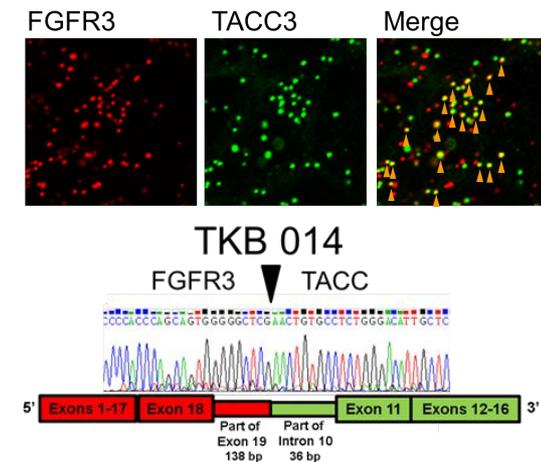


図1 融合陽性症例のRNA-FISH画像、融合遺伝子転写産物のシーケンス結果

*FGFR3-TACC3*融合の頻度は表在性3%(2/60)、浸潤性5%(2/40)、転移性3%(1/34)であった。これまでの報告では *FGFR3-TACC3*融合の頻度は浸潤性では2-4%と報告されているが、表在性での報告は6%(1/17)であった1報しか存在せず、本研究ではより多数の症例数での頻度を解析する事ができた。*FGFR3*遺伝子の変異は表在性の45%、浸潤性の18%、転移性の3%で検出され、既存の報告における頻度は表在性40-70%、浸潤性5-20%、転移性6-18%と概ね一致する結果が得られた(図2)。

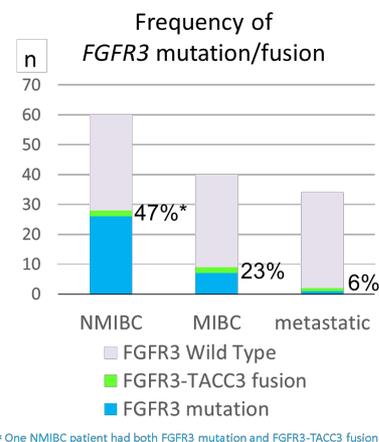


図2 *FGFR3*変異/*FGFR3-TACC3*融合の頻度

本研究により得られた *FGFR3* 変異を含む 50 種の癌関連遺伝子の変異情報と臨床情報との相関や遺伝子の相互関係について現在解析を進めている。*FGFR3* 変異/*FGFR3-TACC3* 融合と *RAS* の変異は相互排他であり、また *FGFR3* 変異/*FGFR3-TACC3* 融合/*RAS* 変異と *TP53* 変異は相互排他であった (図3)。

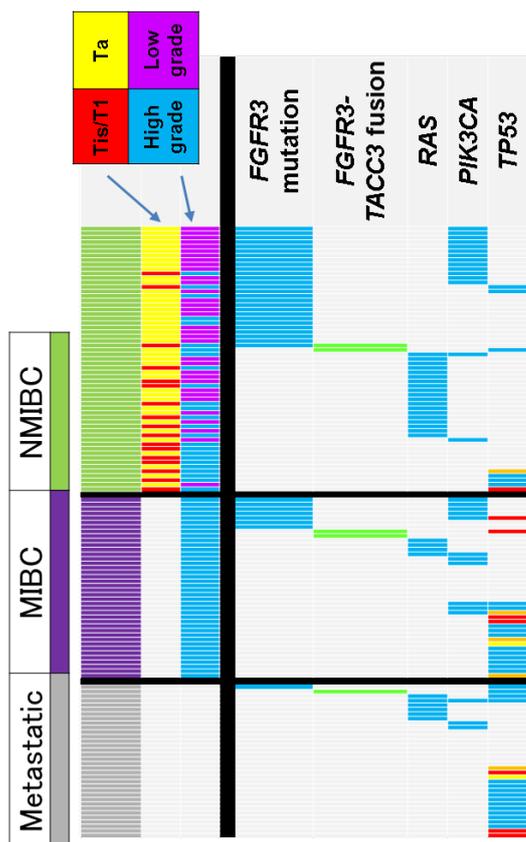


図3 代表的な遺伝子変異の分布

今後、研究開始後3年間の予後調査を行う予定であり、遺伝子プロファイルと予後との関連についての検討も引き続き進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 9 件)

Matsuoka T, Nishiyama H. (他 6 人, 8 番目) DNA methyltransferase-3 like protein expression in various histological types of testicular germ cell tumor. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(5):475-81. doi: 10.1093/jjco/hyv012. 査読有

Koie T, Nishiyama H. (他 8 人, 4 番目) Diversity in treatment modalities of Stage II/III urothelial cancer in Japan: sub-analysis of the multi-institutional national database of the Japanese Urological Association. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(5):468-74. doi:10.1093/jjco/hyv005. 査読有

Miyazaki J, Nishiyama H. (他 8 人, 2 番目) Laparoscopic Versus Open Nephroureterectomy in Muscle-Invasive Upper Tract Urothelial Carcinoma: Subanalysis of the Multi - Institutional National Database of the Japanese Urological Association. *J Endourol.* 2016; 30(5):520-5. doi: 10.1089/end.2015.0757. 査読有

Inokuchi J, Nishiyama H. (他 9 人, 6 番目) Impact of multimodal treatment on prognosis for patients with metastatic upper urinary tract urothelial cancer: Subanalysis of the multi-institutional nationwide case series study of the Japanese Urological Association. *Int J Urol.* 2016;23(3):224-30. doi: 10.1111/iju.13031. 査読有

Kikuchi E, Nishiyama H. (他 13 人, 15 番目) Do metastatic upper tract urothelial carcinoma and bladder carcinoma have similar clinical responses to systemic chemotherapy? A Japanese multi-institutional experience. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(2):163-9. doi: 10.1093/jjco/hyv180. 査読有

Ikeda A, Nishiyama H. (他 8 人, 10 番目) Serum adiponectin concentration in 2,939 Japanese men undergoing screening for prostate cancer. *Prostate Int.* 2015 Sep;3(3):87-92. doi: 10.1016/j.pnil.2015.07.001. 査読有

Nakashima M, Nishiyama H. (他 7 人, 8 番目) Urine CXCL1 as a biomarker for tumor detection and outcome prediction in bladder cancer. *Cancer Biomark.* 2015;15(4):357-64. doi: 10.3233/CBM-150472. 査読有

Miyazaki J, Nishiyama H. (他 8 人, 2 番目) Impact of smoking on the age at diagnosis of upper tract urothelial carcinoma: Subanalysis of the Japanese Urological Association multi-institutional national database. *Int J Urol.* 2015;22(11):1023-7. doi: 10.1111/iju.12886. 査読有

Ichioka D, Nishiyama H. (他 11 人, 13 番目) Impact of renal function of patients with advanced urothelial cancer on eligibility for first-line chemotherapy and treatment outcomes. *Jpn J Clin Oncol.* 2015;45(9):867-73. doi: 10.1093/jjco/hyv082. 査読有

(学会発表) (計 1 件)

Masahiro Kurobe, Takahiro Kojima, Koichi Nishimura, Hiroyuki Nishiyama, Comprehensive analysis of mutation status in 50 oncogenes and tumor suppressor genes of urothelial cancer patients,

The 104th Japanese Urological Association
Annual Meeting, International
Session“Urothelial tumor“, April 24,
2016.Sendai International Center (Sendai)

6. 研究組織

研究代表者

西山 博之 (NISHIYAMA,Hiroyuki)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号:26670696