

氏 名	河原 貴史		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9184 号		
学位授与年月	平成 31年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第 条第 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<i>TP53</i> codon72 遺伝子多型は筋層非浸潤性膀胱癌において <i>FGFR3</i> , <i>RAS</i> の体細胞変異に関与する		
主 査	筑波大学教授	博士（医学）	藤本 学
副 査	筑波大学教授	博士（医学）	倉田 昌直
副 査	筑波大学准教授	博士（医学）	坂下 信悟
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	菊池 慎二

論文の内容の要旨

河原 貴史氏の博士学位論文は、膀胱癌の発癌過程における遺伝子多型の意義、特に *TP53* の体細胞変異への影響について検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的） 膀胱癌の発癌過程には少なくとも2つの経路があることが報告されている。1つは過形成から乳頭状腫瘍を生じる主に筋層非浸潤性膀胱癌が生じる経路で *FGFR3* と *RAS* 遺伝子の活性化が関与していると考えられている。またもう一つは異形成から上皮内癌が生じ筋層浸潤性膀胱癌を生じる経路で主に *TP53* や *RB* 遺伝子の不活化が関与していると考えられている。しかし2つの経路のうちどちらの経路が選択され、また特定の体細胞変異が獲得される機序は明らかとなっていない。最近肺癌やメラノーマなどで特定の遺伝子多型と特定の体細胞変異との関連が報告されており、遺伝子多型が体細胞変異に影響を与えることが示唆されている。*TP53* は膀胱癌で中心的な役割を果たしているが *TP53* には幾つかの遺伝子多型が知られている。その中で codon72 はアミノ酸変化を伴う遺伝子多型として知られ、機能解析や様々な癌種で発癌や予後などよく研究されている遺伝子多型である。膀胱癌においても発症のリスク因子となっている可能性や、予後との関連が報告されている。著者は *TP53* codon72 と膀胱癌の予後との関連が遺伝子多型による体細胞変異の差異にあるのではないかと仮説を立て、*TP53* codon72 遺伝子多型と体細胞変異との間に関連がないか検討を行った。

(対象と方法) 103 人の膀胱尿路上皮癌患者を対象とし、患者背景は筋層非浸潤性膀胱癌が 59 人、筋層浸潤性膀胱癌が 44 人であった。*TP53* codon72 遺伝子多型は患者の血液より抽出した DNA を用いて Taqman genotyping assay で解析した。また体細胞変異は腫瘍組織のホルマリン包埋切片より DNA を抽出し、50 個の癌関連遺伝子を解析する Ion AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 を用い、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンスにて解析した。得られた結果から遺伝子多型と体細胞変異との間に相関がないか検討した。

(結果) *TP53* codon72 のアレル頻度はそれぞれ Arg/Arg は 37%(38/103), Arg/Pro は 42%(43/103)、Pro/Pro は 21%(22/103)であった。また体細胞変異は 50 遺伝子のうち 11 遺伝子が陽性で、変異頻度の高いものから *FGFR3* (33%), *TP53* (29%), *PIK3CA* (25%), *HRAS* (13%), *KRAS* (11%), *AKT1* (3%), *CTNNB1* (3%), *ATM* (1%), *BRAF* (1%), *NRAS* (1%), *RBI* (1%)であった。変異頻度の高い *FGFR3*、*TP53*、*PIK3CA*、*RAS*(*KRAS*, *HRAS*, *NRAS*)に着目し以後の解析を行った。*FGFR3* 変異は Arg/Arg, Arg/Pro アレルをもつ患者に多く *PIK3CA* 変異は Arg/Arg アレルをもつ患者に多かった。それぞれ統計学的有意差が見られた ($p<0.01$, $p=0.04$)。筋層非浸潤性膀胱癌では Arg/Arg, Arg/Pro アレルをもつ患者で *FGFR3* 変異が多く、Pro/Pro アレルをもつ患者では *FGFR3* 変異は少なかった (51%:10%, $p=0.02$)。一方、Pro/Pro アレルをもつ患者では *RAS* 変異が多かった (70%:27%, $p<0.01$)。筋層浸潤性膀胱癌では *TP53* codon72 アレルと体細胞変異の頻度の間に有意差は見られなかった。*TP53* codon72 以外に体細胞変異に影響している因子がないか喫煙歴に着目して検討した。喫煙歴の有無と *RAS* 変異の頻度の間に有意差を認めた ($p=0.01$)。*RAS* 変異の頻度は喫煙者で 32%、非喫煙者で 8.8%と喫煙者に多く、喫煙歴により *RAS* 変異が増加する可能性が示唆された。*FGFR3*、*PIK3CA*、*TP53* 変異と喫煙歴との間には有意差を認めなかった。筋層非浸潤性膀胱癌において *TP53* codon72 の Arg アレルの有無と *FGFR3* および *RAS* 変異が、また喫煙歴と *RAS* 変異の頻度が関連していたため、*TP53* codon72 の Arg アレルの有無を喫煙歴の有無で分け *FGFR3* および *RAS* 変異の頻度を比較した。Arg アレルをもつ患者で非喫煙者は *RAS* の変異の頻度が少なく (6.7%)、喫煙者では *RAS* 変異が多かった (34%) が、*FGFR3* 変異は喫煙歴の有無で差を認めなかった (喫煙者;45%, 非喫煙者;60%)。一方、Pro/Pro アレルをもつ患者は喫煙歴に関かわらず *FGFR3* および *RAS* 変異の頻度は変わらなかった (喫煙者;71%, 非喫煙者;67%)。

(考察) *RAS* 遺伝子は *FGFR3* シグナルの下流に位置しており、膀胱癌において *RAS* 変異と *FGFR3* 変異は相互排他的であるとされている。しかし、*RAS* および *FGFR3* 変異のいずれの変異が獲得されるのか機序は分かっていなかった。著者の検討でも *FGFR3* 変異と *RAS* 変異は互いに重複例はなかった。筋層非浸潤性膀胱癌において、*TP53* codon72 の Arg/Arg, Arg/Pro アレルをもつ患者には *FGFR3* 変異が多く、Pro/Pro アレルをもつ患者には *RAS* 変異が多かった。この結果は *TP53* codon72 が筋層非浸潤性膀胱癌における *FGFR3* および *RAS* の変異に影響を与えていると考えられた。喫煙と体細胞変異との関連については非小細胞肺癌において喫煙者に *KRAS* 変異陽性の腫瘍が多いことまた非喫煙女性、なかでもアジア人に *EGFR* 変異陽性の腫瘍が多いことが知られている。膀胱癌では同様の報告は見られなかったが、膀胱癌においても遺伝的背景や喫煙歴が体細胞変異に影響を与えと考えられた。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は筋層非浸潤性膀胱癌において、*TP53* codon72 遺伝子多型が *FGFR3* および *RAS* 遺伝子の体細胞変異と関連することを見出している。また *TP53* codon72 遺伝子多型は *FGFR3* および *RAS* 変異のみでなく *FGFR1* および *FGFR3* の発現との関連も見出し、germline の遺伝的背景が後天的に発生する癌組織の特定の体細胞変異および特定の分子発現と関連することを見出した点は膀胱癌の発癌や進展メカニズムの解明につながると期待され意義深い。膀胱癌の発癌メカニズムの解明や新規治療法の開発を含めた臨床的応用において今後の発展が期待出来る。以上から本研究内容は学位に相当しいと考えられる。

平成 31 年 1 月 8 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。