

令和3年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 国際共同研究推進助成金
研究課題名	非悪性尿路上皮の遺伝子解析によるゲノムリスク分類の開発 (尿 liquid biopsy による尿路上皮癌個別化医療の開発)	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 泌尿器科 講師 南 高文 共同研究者：医学部 泌尿器科 准教授 藤田 和利	

1. 研究目的・内容

膀胱腫瘍手術組織または膀胱生検組織から抽出した DNA を用いて網羅的遺伝子解析を行い、膀胱癌の再発メカニズムの解明を通して、膀胱癌再発および進展、BCG 治療などの膀胱内注入療法の効果と関連する遺伝子変異を探索する。さらに、尿中 cfDNA を用いて遺伝子変異の検出を行い、膀胱生検を行わずに予後予測および個々の患者に応じた治療方針策定を可能とする非侵襲的な Liquid biopsy の開発を行い、Precision medicine の実現を目指す。

2. 研究経過及び成果

研究期間内に膀胱腫瘍または膀胱腫瘍疑いにて、経尿道的膀胱腫瘍切除術または膀胱生検術を施行した症例のうち、同意を得られた 95 例の術前尿を採取・保存した。これらの臨床研究は、近畿大学の倫理委員会の承認を得て行っており (R2-155)、現在も継続中である。

大阪大学泌尿器科との共同研究で、内視鏡切除した表在性膀胱腫瘍切除標本および正常粘膜生検標本を用いて、表在性膀胱腫瘍の腫瘍部と正常粘膜のターゲットシーケンス Ion AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 (ThermoFisher Scientific) とドロップレットデジタル PCR (ddPCR) を行った。TP53 や PIK3CA 変異は腫瘍のみから検出され (図 1)、TERT promotor, FGFR3, CDKN2A については正常粘膜と腫瘍部の両方からペアで変異が検出されており (図 2)、TERT promotor, FGFR3, CDKN2A は、正常粘膜から腫瘍化にいたるプロセスで重要な遺伝子である可能性が示唆された。この研究については共著者として現在論文投稿中である。

図 1. 筋層非浸潤性膀胱癌患者の腫瘍部と生検部で検出された体細胞変異

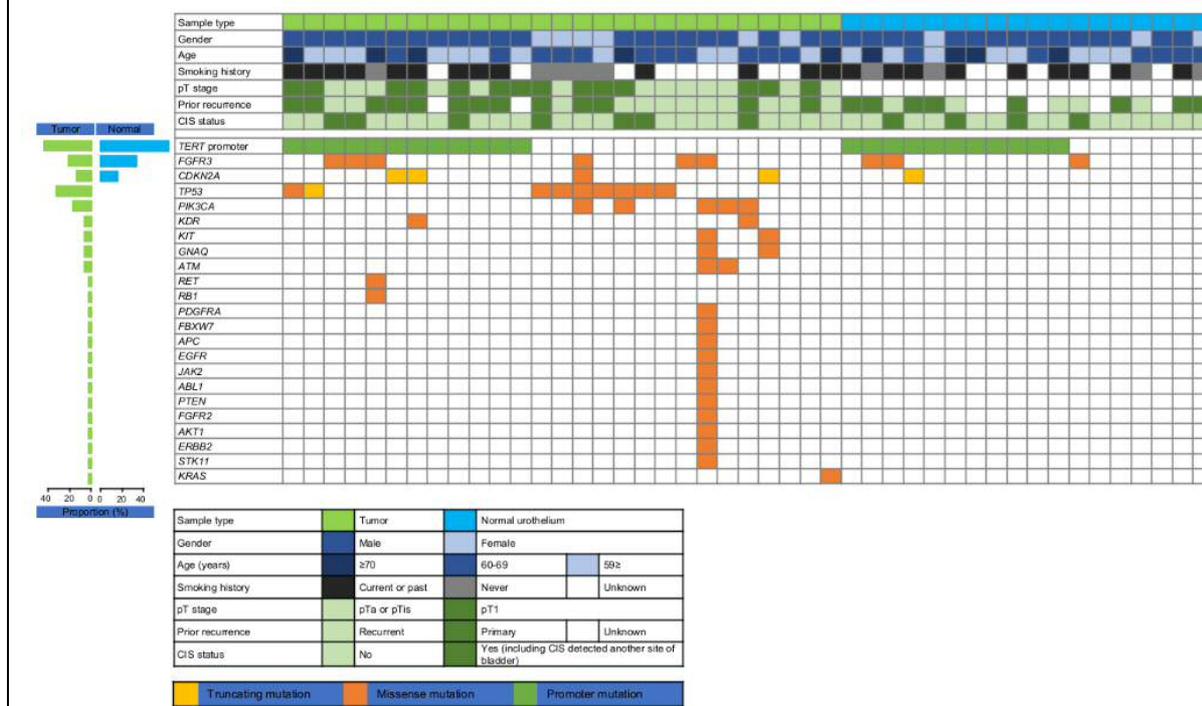
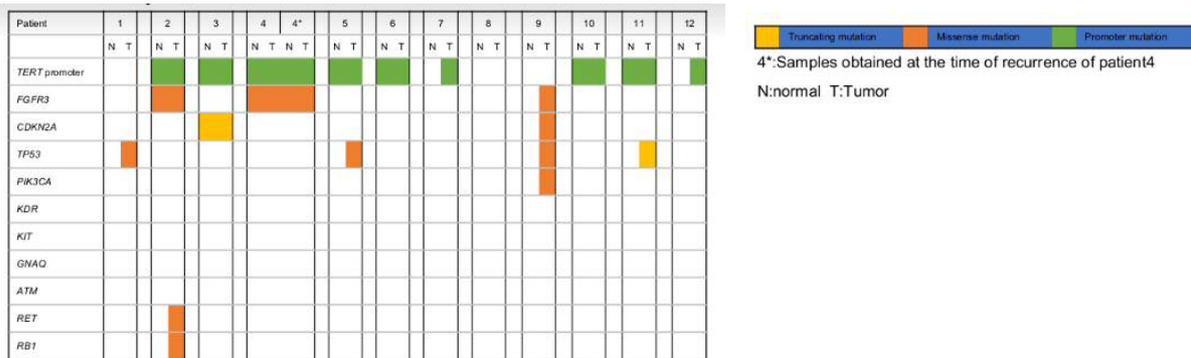


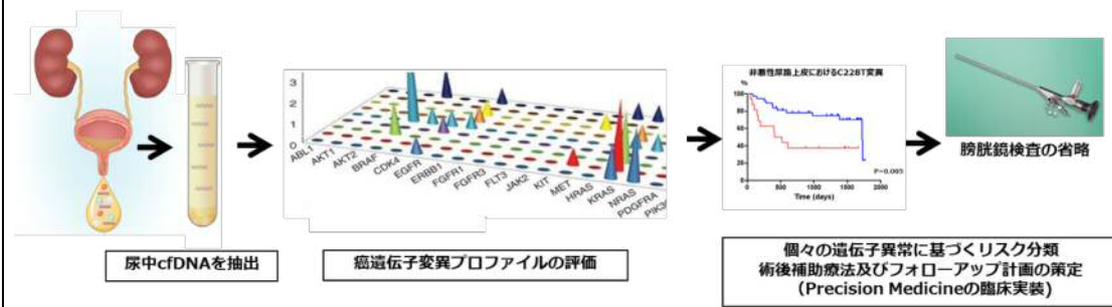
図2. 腫瘍部正常部のペア検体における突然変異



さらに、前立腺癌放射線治療後に発症した膀胱癌に対し内視鏡的切除術を行った 14 例のパラフィン包埋標本から GeneRead FFPE DNA kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA を用いて、近畿大学医学部ゲノム生物学教室の協力のもと ddPCR にて *TERT* プロモーター変異の有無を検索し、次に、Tumor Mutation Load Assay (Oncomine)により 409 遺伝子の網羅的解析を行い、現在結果を解析中である。*TERT* promoter, *p53*, *FGFR3* など既知の遺伝子異常の他、新たな targeted gene や腫瘍突然変異荷重 (TMB) と予後との関連を調べ、より精度の高い膀胱癌のリスク分類やバイオマーカー開発を目指す。また、初発の膀胱腫瘍組織 35 例について同様の遺伝子解析を行い、遺伝子プロファイルの比較検討により、膀胱癌における放射線と癌化に関わるメカニズムの解明につなげる。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究において、膀胱腫瘍組織の DNA 網羅的解析で予後もしくは再発予測因子となりうる新たな遺伝子異常が見つかった場合、尿中 cfDNA の遺伝子解析を行い、新たなバイオマーカーを探索していく。また、表在性膀胱腫瘍における非腫瘍部の *TERT* プロモーター変異と膀胱癌再発の関連についても、膀胱生検症例の腫瘍部と非腫瘍部の DNA を用いて ddPCR にて評価、検証していく予定である。



4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
一般社団法人日本癌学会	口頭	2023年9月21日~23日