

難治性膀胱がんの病態理解に基づく新規治療法の開発

国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所
がんRNA研究分野長 吉見 昭秀

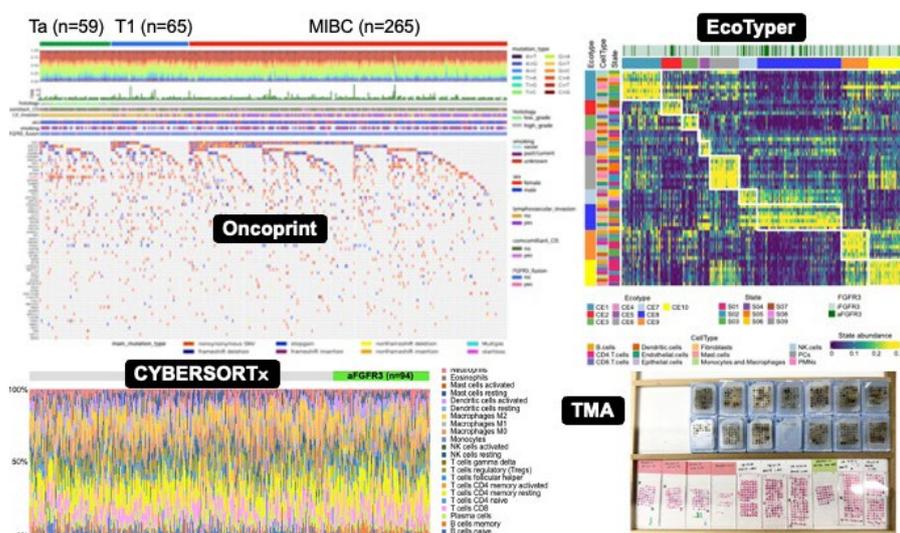
(共同研究者)

大阪医科薬科大学病院腎泌尿器外科 教授 東 治人
大阪医科薬科大学病院腎泌尿器外科 講師 小村 和正

はじめに

膀胱がんは男女ともに中高年から罹患率が急激に上昇するがんである。我々はこれまで392例の膀胱がん症例の臨床情報およびwhole genome/exome sequence、RNAシーケンス (RNA-seq) データを集積した⁽¹⁾ (図1)。同コホートはTCGAなどの

図1 389例蓄積時点での中間解析 (OncoprintやEcoTyper、CYBERSORTxによる解析結果。全例でTMAを準備済み。

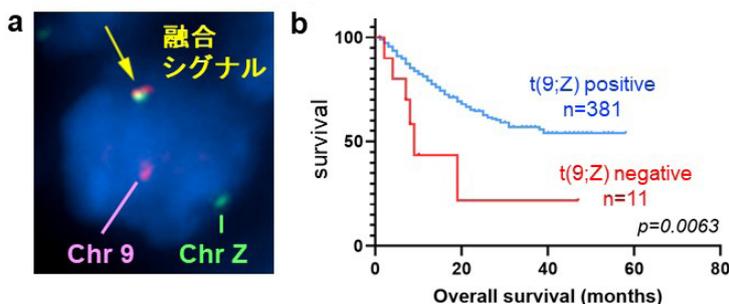


先行研究と比較しても世界最大規模であり、現在なお症例数を集積中である。また、FFPE検体を用いたTCGAと異なり、本コホートでは凍結腫瘍検体からリボゾームRNA除去によりRNA-seqを実施していることから、非常に高品質なRNA-seqを実施している。

世界で初めて染色体転座 t(9;Z) を11例 (2.8%) に同定した (FISH: 図2a)。重要なのは、本転座を有する膀胱がん患者の予後が非常に悪い点である (図2b)。

一方、本転座はshort-read RNA-seqによって検出されたが、non-coding領域がある遺伝子Aに融合する融合遺伝子を形成するため、どのような

図2 新規染色体転座 t(9;Z) と予後

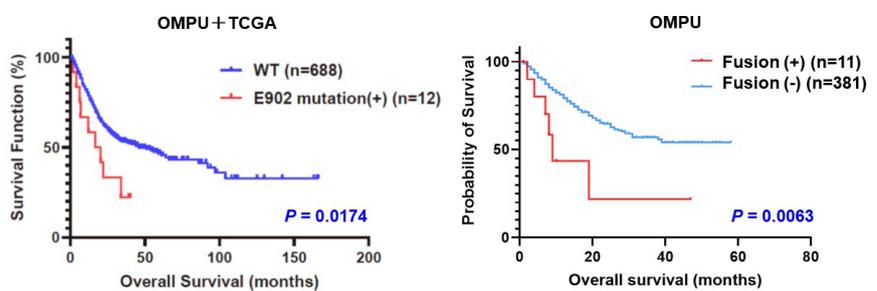


transcriptが形成されるのかが未知である。そこで、本研究ではOxford Nanopore社のlong-read RNA-seqおよびlong-read whole genome sequenceにより染色体転座 t(9;Z)のゲノム構造異常・transcriptを正確に把握し、新規融合遺伝子による膀胱がん発症機構の解明および標的治療法の開発を目指す。特に今回の融合遺伝子はnon-coding領域と遺伝子Aの間のbreakpointが11例全例でまったく同じ部位であり、核酸医薬の非常に良い適応となる可能性がある。そこで、構造異常を明らかにした後に、核酸医薬療法の開発に早期から取り組み、t(9;Z)陽性難治性膀胱がんの予後改善を目指す。

結 果

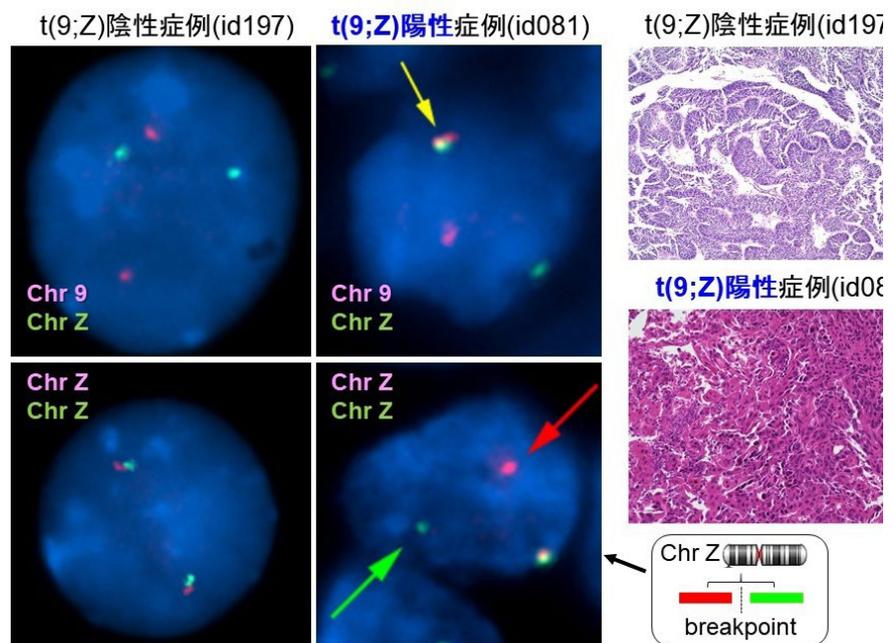
上述のように t(9;Z) 転座を有する膀胱がん症例はSF3B1E902K/Q変異と同様に予後不良な傾向が強い(図3)。特に、融合遺伝子に注目してCancer-specific deathに寄与するものに関して多変量解析を実施すると、t(9;Z)のみが抽出された(Hazard ratio = 4.304, P = 0.00005)。実際に当該11症例のうち9例は2年以内に再発して癌死している。臨床的には、膀胱がんには一般的に約10%のhistological variant症例が存在するが、今回同定された t(9;Z) 陽性症例11例中、7例が histological variant (特にsquamous cell differentiation)であった(図4; P = 0.0004; Fisher's exact test)。同染色体転座はnon-coding regionに breakpointがあることから、poly A精製が用いられたTCGAコホートのRNA-seqデータでは検出されず、大阪医科大学(OMPU)

図3 SF3B1 E902K/G変異およびt(9;Z)転座陽性症例の予後



同定された t(9;Z) 陽性症例11例中、7例が histological variant (特にsquamous cell differentiation)であった(図4; P = 0.0004; Fisher's exact test)。

図4 t(9;Z)のFISHによる確認と特徴的な組織型



データセットのユニーク性を裏付けるものとなっている。一方で、t (9;Z) の病理学的意義は全く不明であるが、OMPUコホート内で t (9;Z) を有する 11 例においては全く同一の breakpoint において染色体転座が生じていることが判明した。このことは、breakpoint 周辺配列を特異的に標的とする siRNA や ASO (Antisense Oligonucleotide) などの核酸医薬開発をデザインする際に非常に有利である。

考 察

OMPU コホートデータセットの予備解析により、SF3B1 変異および t (9;Z) 染色体転座は膀胱がんの予後不良因子である可能性が強く示唆されたため、今後は症例集積により両異常を有する症例のさらなる集積を目指す。また、SF3B1 変異に関してはその膀胱がんにおける非常に強い臓器特異性を活用して、鍵となる Mis-splicing event (Key MSE) を同定し、Key MSE を修正する核酸医薬療法の開発を目指す。新規に同定された染色体転座 t (9;Z) は非常にユニークな特徴を有しており、すでに独立した予後不良因子であることが強く示唆され、臨床的には histological variants と有意に関連がある。そこで、該当症例の long-read RNA-seq によって t (9;Z) による transcript 配列を同定するとともに、遺伝子発現プロファイルなどを検討し、細胞レベルでゲノム編集あるいは過剰発現を用いて t (9;Z) の病理学的意義の解明を目指す。また、同転座の breakpoint が同一であることから、breakpoint を標的にした siRNA や ASO などの核酸医薬を開発していきたい。

要 約

本研究では Oxford Nanopore 社の long-read RNA-seq および long-read whole genome sequence により染色体転座 t (9;Z) のゲノム構造異常・transcript を正確に把握し、新規融合遺伝子による膀胱がん発症機構の解明および標的治療法の開発を目指した。研究の結果、膀胱がんの特異的にみられるスプライシング因子 SF3B1 の hotspot 変異 SF3B1E902K/Q および新規染色体転座 t (9;Z) を有する症例が独立した予後不良因子として同定されたが、その病態は未だ不明である。今後は症例をさらに集積することにより、これらの遺伝子異常の臨床的意義を明らかにするとともに、Multi-Omics 解析、分子細胞学的手法等を通じてその病態解明を目指す。

文 献

(#corresponding)

1. Komura K, Tokushige S, Ishida M, Hirosuna K, Yamazaki S, Nishimura K, Ajiro M, Ohno T, Nakamori K, Kinoshita S, Tsujino T, Maenosono R, Yoshikawa Y, Takai T, Tsutsumi T, Taniguchi

K, Tanaka T, Takahara K, Inamoto T, Hirose Y, Ono F, Shiraishi Y, **Yoshimi A#**, Azuma H. Tertiary lymphoid structure and neutrophil-lymphocyte ratio coordinately predict outcome of pembrolizumab. *Cancer Sci*. doi: 10.1111/cas.15976. Online ahead of print. 2023.