

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：83802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10523

研究課題名(和文) 遺伝子プロファイルによる胃癌の分類

研究課題名(英文) Classification of gastric cancer by molecular profiling

研究代表者

寺島 雅典(Terashima, Masanori)

静岡県立静岡がんセンター(研究所)・その他部局等・研究員

研究者番号：40197794

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)：胃癌症例599例を対象として血液、胃癌腫瘍組織、非癌部粘膜から検体を採取し、全エクソン解および網羅的遺伝子発現解析を実施した。遺伝子変異では、TMB highを14%に認め、TP53の変異が48%と最も高率であった。250例でTCGAに従って分類すると、EBV10例(4%)、MSI34例(14%)、CIN119例(48%)、GS87例(35%)となり、無再発生存期間に有意な差が認められた。術後補助化学療法が施行された症例において免疫調整関連遺伝子群の発現が予後因子となる結果が得られた。また、肝転移再発例でMAGEA10の高発現が認められ、MAGEA10が無再発生存の予後因子として選択された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により本邦の胃癌遺伝子プロファイリングの同定が可能となった。その結果、わが国ではEBVやMSIの頻度が低く、CINの頻度が高い事が明らかとなった。今後、わが国独自の分類が必要となる事が示唆された。また、本邦では胃癌手術補助化学療法としてS-1が用いられているが、今回の研究により、術後補助化学療法においても免疫関連遺伝子が予後因子となることが明らかとされた。今後の免疫チェックポイント阻害剤の術後補助化学療法への応用に期待がもてる結果であった。更に、術後肝転移再発症例ではMAGEA10の高発現が認められた。これらのアプローチにより進行胃癌の治療成績の向上がもたらされる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Whole-exome sequencing and comprehensive gene expression analysis were performed using bold sample, gastric cancer tissue and non-cancerous mucosa in 599 patients with gastric cancer. In gene mutation analysis, TMB high was observed in 14% of the patients. Most frequent gene mutation was observed in TP53 (48%). TCGA classification was adopted in 250 patients, resulting in EBV in 10 patients (1%), MSI in 34 patients (14%), CIN 10 119 patients (48%), GS in 87 patients (35%). There were significant differences of relapse-free survival among the subgroup. In patients received adjuvant chemotherapy, immune regulatory genes were identified as prognostic factor. In addition, over expression of MAGEA10 was observed in patients with liver metastasis and MAGEA10 was identified as prognostic factor for relapse-free survival.

研究分野：消化器外科

キーワード：外科 癌 ゲノム マイクロアレイ

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

胃癌は未だにわが国で最も罹患率の高い腫瘍であり、毎年 50,000 人が胃癌により死亡している。進行胃癌に対する外科的な手術療法に関してはわが国のレベルが世界で最も高く、わが国のリンパ節郭清術が世界の標準と認識されるに至っている。しかしながらこうした高い手術の技術を持ってしても進行胃癌の治療成績は未だ不良であり、転移や再発の予測マーカーの確立が切望されている。これまで、様々なバイオマーカーに関する研究が実施されているが、未だ有用なマーカーは確立されていない。我々も、これまで腫瘍細胞に特異的に発現する **splicing variant** を用いた腫瘍特異的なマーカーの確立やプロテオミクスの解析に関して科学研究費により研究してきたが、臨床的な有用性を確認するまでには至っていない。

一方、胃癌他の癌腫と比較して多様性を有する事が知られており、占居部位、肉眼型、組織型によって進展様式や予後が異なる。近年、網羅的ゲノム解析の結果から、胃癌が4つのサブタイプに分類される事が報告されている (TCGA; *The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive Molecular Characterization of Gastric Adenocarcinoma. Nature. 2014, 513: 202-9.*)。これらのサブタイプ毎に進展様式や生存転帰が異なるばかりでなく、治療標的が異なる可能性も示唆されている。また、韓国からは遺伝子発現解析の結果から胃癌を4つサブタイプに分類する報告もなされており、同様に臨床病理学的特徴や生存転帰が異なる事が報告されている (ACRS; *Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. Nature Medicine. 2015, 21: 449-456.*)。しかしながら、これらの報告は何れも海外で行われた研究であり、我が国の胃癌が同様に分類されるか、治療標的となる分子が同一であるか否かは明らかにされていない。

2. 研究の目的

胃癌は他の癌種と比較して多様性に富む腫瘍であり、同じ胃癌といっても占居部位や肉眼型、組織型によって進展様式や再発形式、予後が異なる事が知られている。これまで、様々な遺伝子や蛋白の発現解析などがなされてきたが、単一の分子により全ての胃癌の特性を示す事は不可能であった。近年、包括的かつ網羅的遺伝子解析の手法により、胃癌が幾つかのタイプに分類される事が報告されるようになった。しかし、これらの報告は全て海外からの報告であり、我が国の胃癌においてこれら遺伝子解析による分類が妥当か否かは不明である。そこで、本研究では胃癌に対して全エクソン解析並びに網羅的遺伝子発現解析を実施し、我が国における遺伝子異常に基づく胃癌のサブタイプ分類の確立、並びに治療標的の探索を目的として本研究を立案した。

3. 研究の方法

進行胃癌 599 例を対象として、術前に全血を採取し凍結保存。手術時摘出標本から癌組織、非癌部粘膜を採取し同様に凍結保存する。凍結保存した検体を用いて全エクソン解析 (Ion Proton, Life Technologies) および網羅的遺伝子発現解析 (DNA microarray, Agilent Technologies) を実施する。得られた結果を元に、初めに TCGA、ACRS のサブタイプモデルを当てはめ、我が国の胃癌分類における妥当性に関して検討する。次に、遺伝子異常のデータを基に我が国の胃癌独自のサブタイプを確立し、臨床病理学的因子との関連を検討する。更に、パスウェイ解析により各サブタイプにおける主要な遺伝子異常を検索し、治療標

的となる分子を探索する。

4. 研究成果

これまで胃癌症例 421 例を対象として血液、胃癌腫瘍組織、非癌部粘膜から検体を採取し、全エクソン解析並びに網羅的遺伝子発現解析を実施し、ゲノム変異、体細胞変異、遺伝子増幅、融合遺伝子の検出および遺伝子発現異常の検出を行った。

1) 胃癌における遺伝子異常の解析

臨床病理学的因子との解析が終了した 250 例の遺伝子変異解析の結果では、TMB high を 34 例に認め(図 1)、頻度の高かった変異は TP53 47.6%, CDH1 11.2%, ARID1A 7.5%, PIK3CA 4.8%, ERBB2 4.3%, KRAS 3.7%, FBXW7 3.2%などであった(図 2)。

遺伝子変異解析、発現解析が終了した 241 例のデータを用いて TCGA に従って分類を試みると、EBV13 例(5%)、MSI22 例(11%)、CIN108 例(45%)、GS92 例(38%) に分類可能であった。これらの 4 タイプで臨床病理学的因子について検討すると、EBV では男性で intestinal type が多く、MSI では高齢者で L 領域に多く、CIN では diffuse type、U 領域に多く、GS では女性で intestinal type が多い傾向が認められた。遺伝子変異・発現解析では、MSI で hypermutation, MLH1 silencing が、CIN で TP53 mutation, RTK-RAS activation が、GS で CDH1 mutation がそれぞれ認められ、TCGA と同様の傾向を示していた。また、無再発生存期間は EBV>MSI>CIN>GS で有意な差が認められた(図 3)。

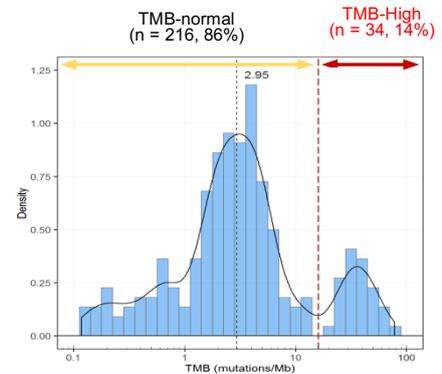


図 1 Distribution of tumor mutation burden (TMB)



図 2 Significantly mutated genes

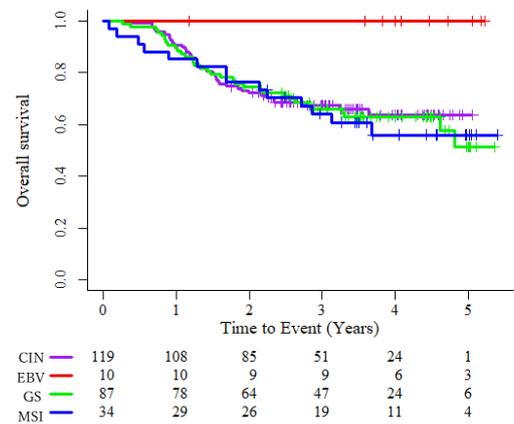


図 3 Survival according to TCGA subtypes

2) 術後補助化学療法における予後因子の探索

更に、術後補助化学療法が施行された 102 例においてクラスター解析を行ったところ、再発の高率 (27/96) 多い A 群と、低率 (1/20) な B 群の 2 群に分類する事が可能であり、B 群においては免疫調整関連遺伝子群の発現が上昇している結果が得られた。一方、術後補助化学療法が施行されていなかった 46 例においてはこれらの遺伝子発現と生存との間に関連が認められなかった。これまで報告されてきた薬剤代謝関連遺伝子の発現よりも免疫調整因子が強い prognostic factor となる事が示唆された(図 4、5)。

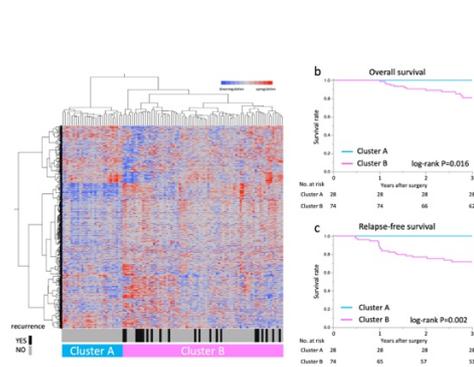


図4. Hierarchical clustering analysis and survival curves

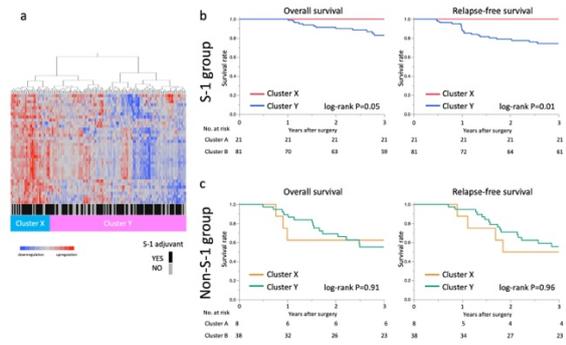


図5 Impact of upregulation of immune-related genes on survival in the non-S-1 group

更に、PD-L1 発現、TMB と免疫調整関連遺伝子との関連について検討すると、PD-L1 発現陽性例では免疫関連調整遺伝子発現の増強が認められた。一方、PD-L1 発現陰性、TMB low のグループでは免疫調整関連遺伝子の発現が低率であった。PD-L1 陽性、TMB high のグループで優位に良好な無再発生存を認めた。

3) 遺伝子発現と再発形式に関する検討

遺伝子発現と再発形式に関して検討したところ、肝転移再発例で MAGEA10 の高発現が認められ、免疫染色にて MAGEA10 が無再発生存に対する予後因子となる結果が得られた。

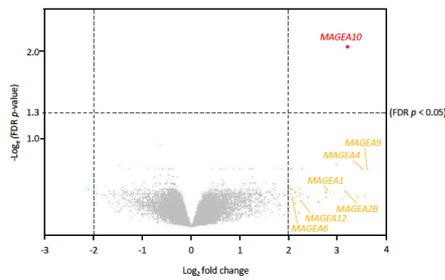


図6 Volcano plot for differentially expressed genes between presence and absent of early liver recurrence.

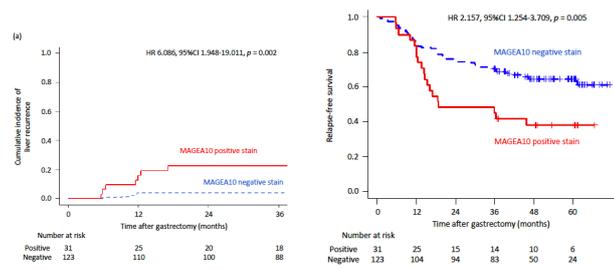


図7 Early liver recurrence and survival analysis according to immunohistochemistry of MAGEA10.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Terashima Masanori, Iwasaki Yoshiaki, Mizusawa Junki, Katayama Hiroshi, Nakamura Kenichi, Katai Hitoshi, Yoshikawa Takaki, Ito Yuichi, Kaji Masahide, Kimura Yutaka, Hirao Motohiro, Yamada Makoto, Kurita Akira, Takagi Masakazu, Boku Narikazu, Sano Takeshi, Sasako Mitsuru	4. 巻 22
2. 論文標題 Randomized phase III trial of gastrectomy with or without neoadjuvant S-1 plus cisplatin for type 4 or large type 3 gastric cancer, the short-term safety and surgical results: Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG0501)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 1044-1052
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-019-00941-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujiya Keiichi, Kawamura Taiichi, Omae Katsuhiko, Makuuchi Rie, Irino Tomoyuki, Tokunaga Masanori, Tanizawa Yutaka, Bando Etsuro, Terashima Masanori	4. 巻 25
2. 論文標題 Impact of Malnutrition After Gastrectomy for Gastric Cancer on Long-Term Survival	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 974 ~ 983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-018-6342-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawamura Taiichi, Makuuchi Rie, Tokunaga Masanori, Tanizawa Yutaka, Bando Etsuro, Yasui Hiroshi, Aoyama Takashi, Inano Toshimi, Terashima Masanori	4. 巻 25
2. 論文標題 Long-Term Outcomes of Gastric Cancer Patients with Preoperative Sarcopenia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 1625 ~ 1632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-018-6452-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tokunaga M, Kusuha M, Terashima M, et al	4. 巻 52
2. 論文標題 Metabolome analysis of esophageal cancer tissues using capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Oncol.	6. 最初と最後の頁 1947-1958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4340.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiyama Y, Ohshima K, Kusuhara M, et al.	4. 巻 39
2. 論文標題 Immune response-associated gene profiling in Japanese melanoma patients using multi-omics analysis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 OncoI Rep.	6. 最初と最後の頁 1125-1131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2017.6173	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamakawa Y, Kusuhara M, Terashima M, et al	4. 巻 38
2. 論文標題 CD44 variant 9 expression as a predictor for gastric cancer recurrence: immunohistochemical and metabolomic analysis of surgically resected tissues.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomed Res.	6. 最初と最後の頁 41-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.38.41.	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 -

1. 著者名 Yamaguchi K, Urakami K, Nagashima T, Terashima M, et al.	4. 巻 37
2. 論文標題 Prevalence of low-penetrant germline TP53 D49H mutation in Japanese cancer patients.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biomed Res.	6. 最初と最後の頁 259-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.37.259.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Makuuchi R, Terashima M, Kusuhara M, Nakajima T, Serizawa M, Hatakeyama K, Ohshima K, Urakami K, Yamaguchi K.	4. 巻 38
2. 論文標題 Comprehensive analysis of gene mutation and expression profiles in neuroendocrine carcinomas of the stomach.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomed Res.	6. 最初と最後の頁 19-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.38.19.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura K, Hatakeyama K, Furukawa K, Fujiya K, Kamiya S, Hikage M, Tanizawa Y, Bando E, Ohshima K, Urakami K, Machida N, Yasui H, Yamaguchi K, Terashima M.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Prediction of S-1 adjuvant chemotherapy benefit in Stage II/III gastric cancer treatment based on comprehensive gene expression analysis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-020-01056-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagashima T, Yamaguchi K, Terashima et al	4. 巻 111
2. 論文標題 Japanese version of The Cancer Genome Atlas, JCGA, established using fresh frozen tumors obtained from 5143 cancer patients.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 687-699
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14290.	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13件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 中村健一, 幕内梨恵, 畠山慶一, 杉浦禎一, 山口智弘, 塩見明生, 坂東悦郎, 山口建, 寺島雅典
2. 発表標題 網羅的遺伝子発現解析による胃癌S-1術後補助療法の効果予測に関する検討
3. 学会等名 第73回 日本消化器外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤谷啓一, 楠原正俊, 大島啓一, 幕内梨恵, 入野誠之, 谷澤豊, 坂東悦郎, 川村泰一, 寺島雅典, 山口建
2. 発表標題 胃GISTの遺伝情報に基づいた新規バイオマーカーの探索
3. 学会等名 第73回 日本消化器外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名	藤谷啓一, 芹澤昌邦, 楠原正俊, 浦研一, 大島啓一, 長嶋剛史, 幕内梨恵, 谷澤豊, 坂東悦郎, 川村泰一, 山口建, 寺島雅典
2. 発表標題	全エクソン解析および全遺伝子発現解析の統合による胃腺癌の分子生物学的分類の検討
3. 学会等名	第29回日本消化器癌発生学会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	古川健一朗, 畠山慶, 幕内梨恵, 谷澤豊, 坂東悦郎, 川村泰一, 杉浦禎一, 塩見明生, 寺島雅典, 山口建
2. 発表標題	胃腺がんhypermutator群の分子プロファイリング
3. 学会等名	第29回日本消化器癌発生学会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Kenichi Nakamura, Keiichi Hatakeyama, Tetsuro Toriumi, Yusuke Koseki, Yuhei Waki, Keiichi Fujiya, Satoshi Kamiya, Rie Makuuchi, Yutaka Tanizawa, Etsuro Bando, Taiichi Kawamura, Ken Yamaguchi, Masanori Terashima
2. 発表標題	Expression patterns of PD-L1 and other immune checkpoint molecules in gastric cancer.
3. 学会等名	Gastrointestinal cancer Symposium 2019
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	中村健一、幕内梨恵、畠山慶一、浅岡礼人、小関佑介、脇悠平、大森隼人、加治早苗、入野誠之、谷澤豊、坂東悦郎、川村泰一、楠原正敏、杉浦禎一、塩見明生、山口智弘、山口建、寺島雅典
2. 発表標題	The Cancer Genome Atlas (TCGA) の胃癌分子サブタイプ分類に基づいた日本人胃癌の特徴
3. 学会等名	第28回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名 M. Terashima
2. 発表標題 Perioperative treatment strategies and current studies to improve gastric cancer outcomes in Japan
3. 学会等名 4th International Gastrointestinal Cancer Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 寺島雅典
2. 発表標題 胃癌に対する外科治療の現状と展望
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Kaji, M. Kusuhara, T. Irino, R. Makuuchi, Y. Yamakawa, Y. Tanizawa, E. Bando, T. Kawamura, K. Kami, Y. Ohashi, M. Terashima
2. 発表標題 Metabolomic profiling in human gastric cancer tissue using capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry
3. 学会等名 International Gastric Cancer Congress12th International Gastric Cancer Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 寺島雅典、幕内梨恵、畠山慶一、楠原正俊、堀江泰江、徳永正則、谷澤豊、坂東悦郎、川村泰一、日景允、加治早苗、絹笠祐介、杉浦禎一、上坂克彦、山口建
2. 発表標題 家族歴を有する胃癌の遺伝子解析
3. 学会等名 第54回日本癌治療学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 幕内梨恵、畠山慶一、徳永正則、谷澤豊、坂東悦郎、川村泰一、絹笠祐介、杉浦禎一、上坂克彦、大島啓一、浦上研一、楠原正俊、山口建、寺島正典
2. 発表標題 TP53遺伝子変異を加味した新しい胃癌分類の試み
3. 学会等名 第54回日本癌治療学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 M. Terashima, K. Hatakeyama, M. Kusuhara, R. Makuuchi, M. Tokunaga, Y. Tanizawa, E. Bando, T. Kawamura, M. Hikage, S. Kaji, K. Ohshima, S. Ohnami, K. Urakami, K. Yamaguchi
2. 発表標題 Genetic analysis of gastric cancer with distinctive family history
3. 学会等名 European Society for Medical Oncology 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 R. Makuuchi, K. Hatakeyama, M. Terashima, M. Kusuhara, M. Tokunaga, Y. Tanizawa, E. Bando, T. Kawamura, M. Hikage, S. Kaji, K. Ohshima, S. Ohnami, K. Urakami, K. Yamaguchi
2. 発表標題 New approach to gastric cancer classification based on TP53 mutation
3. 学会等名 European Society for Medical Oncology 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016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
研究 分担 者	大島 啓一 (Keiichi Oshima) (10399587)	静岡県立静岡がんセンター(研究所)・その他部局等・研究員 (83802)	

