

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07176

研究課題名（和文）多発肺がんモデルを用いた環境因子の肺がん発癌における役割の解明

研究課題名（英文）Mutational analysis on carcinogenesis in multiple primary lung cancers

研究代表者

川口 知哉（Kawaguchi, Tomoya）

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：70254422

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：同一の発癌リスク下で発生した多発肺がんにおいて、遺伝子変異がランダムに偶然起こるのか、環境因子の影響を強く受けて多発病変間で共通して起こるのかを明らかにするために、多発肺がんにおける遺伝子変異プロファイルと環境因子の関係を調査した。大阪市立大学医学部付属病院で外科的切除された肺癌症例のうち、多発肺がんと診断された17症例38病変を対象とした。がん関連遺伝子409遺伝子を対象に次世代シーケンサーで解析を行った。EGFR、KRAS変異は同一個人に発生した多発病変に共通して変異が起こり、特に非喫煙者・軽喫煙者、男性では共通して起こりやすかった。その他の遺伝子変異は偶然の可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺がん発癌に関与する環境因子としては喫煙がよく知られているが、喫煙によるゲノム異常から発癌へ至るメカニズムや、その他の環境因子の発癌における関与についての詳細は未だ明らかではない。本研究では肺がん発癌における環境因子の関与をさらに解明するために、同一症例における異所性、異時性同時性に発生した多発肺がん検体を用いてゲノム相同性の解析を行った。同じ環境因子下で発生した異なる肺がんの分子生物学的差異を明らかにし、発癌における環境因子の役割を解明する一助となった。

研究成果の概要（英文）：We performed paired mutational analyses to clarify genetic mutations in multiple primary lung cancers (MPLC) and its relationship with environmental factors.

We obtained 38 surgical specimens from 17 patients who were pathologically diagnosed as MPLC and underwent surgery at Osaka City University Hospital. For genetic profiling of MPLC patients, the extracted DNAs were deep-sequenced for somatic mutations in 409 cancer-associated genes. The occurrence of concomitant EGFR or KRAS mutations in multiple tumors within the same individuals was significantly more frequent than expected by chance, suggesting environmental factors play more role in EGFR and KRAS mutations than the other mutations including TP53 which occurred more randomly in individual tumors. The development of EGFR or KRAS-mutated tumors were strongly related to environmental factors such as sex and smoking history, and suggested that the other mutations may occur randomly.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：肺癌 発がん 環境因子 ゲノム解析

1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまで、肺がんにおける発癌と環境因子との関連を分子生物学に解明することに取り組んできた。非喫煙者肺がんの病因については不明なことが多いが、受動喫煙、ラドン、大気汚染、ヒトパピローマウィルス等が関与している可能性を示唆してきた。これらの研究をさらに進めるために、国立病院機構の事業として Japan Molecular Epidemiology (JME) 研究を計画し、前向きに全国から 957 例の肺がん手術検体を集積し、72 個の癌関連遺伝子変異を網羅的に調査した。直接的な環境因子は、喫煙と肥満度であることを報告し、TP53、KRAS、SMAD4 等の発癌関連遺伝子の変異と有意に相関し、特異な塩基置換を示すことを証明した (Kawaguchi T et al, J Clin Oncol 2016)。

上記の大規模疫学研究を通じて新規の肺がん発癌関連環境因子を同定する成果を得たが、同時にいくつかの課題が明らかとなった。すなわち、大規模コホート研究においては、個々の症例における分子生物学的及び医学的背景が異なるため、特定の環境因子の発癌における寄与度を明らかにすることは困難であるということである。

これらの背景およびこれまでの研究成果をもとに、環境因子が固定された同一症例の多発肺がん検体の各病変の病理学特徴、分子生物学的特徴(ゲノム異常)に注目することをした。その相関性と差異を明らかにすることで、発がんメカニズムのさらなる解明が期待されると考えられる。

2. 研究の目的

多発肺がんは原発性肺がんの 0.2~20% と報告され、様々な遺伝子変異プロファイルを示すと考えられている。同一の発癌リスク下で発生した多発肺がんであっても遺伝子変異がランダムに偶然起こるのか、特定の環境因子の影響を強く受けて多発病変間で共通して起こるのかは不明である。それらを明らかにするため、多発肺がんの遺伝子プロファイルおよび環境因子の関与について検討することが研究の目的である。

多発肺がんは比較的稀であるため、分子生物学的特徴についての報告は少なく、環境因子と発癌の関連を調べる最適なモデルになると考えられる。本研究により、肺がん発癌における医学的及び分子生物学的課題に対する一定の回答を得ることができると考えられる。

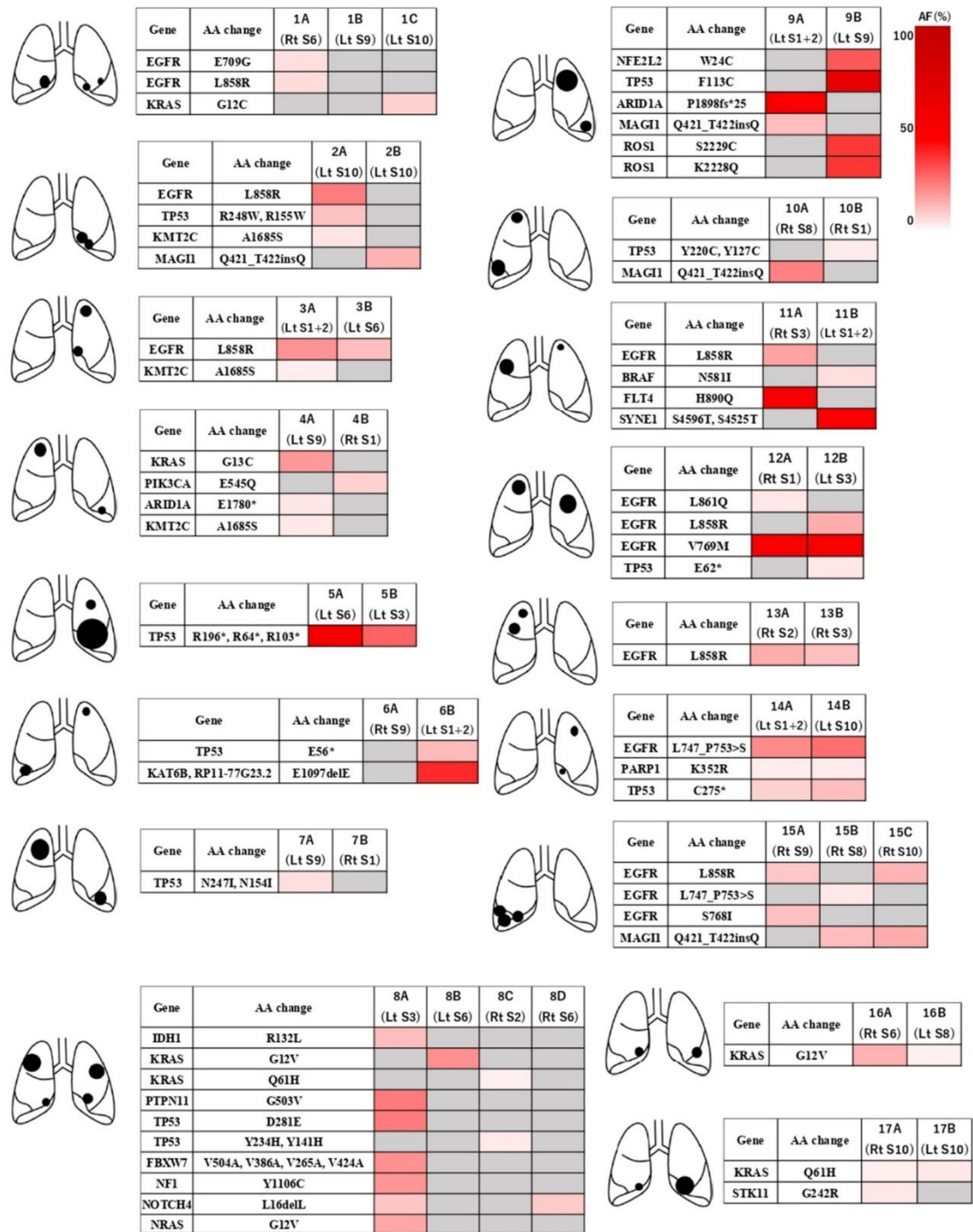
3. 研究の方法

2007 年 10 月から 2019 年 3 月までの間に大阪市立大学付属病院で外科的切除された肺癌症例のうち、画像所見および病理診断結果より、腫瘍内科医、外科医及び病理医で構成されるカンサーボードで多発肺がんとして診断された 17 症例 38 病変を対象とした。多発肺がん組織検体より DNA の抽出を行う。腫瘍含有率が低い検体についてはマイクロダイセクションを行い、腫瘍細胞の比率を高めてから DNA 抽出を行った。がん関連遺伝子 409 遺伝子を対象にイルミナ社の次世代シーケンサー (Ion S5) で解析を行った。過去に報告された日本人における肺がん分子疫学研究 JME 試験 (Kawaguchi T et al, J Clin Oncol 2016) をもとに、遺伝子変異が偶然で起こると仮定した場合に、同一個人内の多発肺がん間で共通して変異が起こる確率を算出した。算出した確率と実際のデータを比較し、exact test を用いて統計学的解析を行った。

大阪市立大学医学系研究等倫理審査委員会で承認を得て実施した。

4. 研究成果

17 症例 38 病変でシーケンス可能であり、カバレッジ中央値は 846 (range: 540-2061) であった。年齢中央値は 73 歳 (50-83 歳)、男性 12 人、女性 5 人、非喫煙者 6 人、既喫煙者 11 人、同時性多発肺がん 13 人、異時性多発肺がん 4 人であった。38 腫瘍のうち非扁平上皮癌が 34 病変、扁平上皮癌が 4 病変であった。次の図は、17 例の結果をまとめたものである。



38 病変において、EGFR 変異は非喫煙者・軽喫煙者、女性で有意に頻度が高かった。その他の遺伝子変異に関して有意な環境因子との関連性を認めなかった。EGFR、KRAS 変異は同一個人に発生した多発病変に有意に共通して変異が起こり (EGFR, $p=0.0023$; KRAS, $p=0.0049$)、特に非喫煙者・軽喫煙者、男性では共通して起こりやすかった。その他の遺伝子変異は偶然で変異を認めた。多発肺がんでは EGFR、KRAS 変異は共通して変異が起こりやすく、性別、喫煙との関係性が強いことが示唆された。今回の研究成果は、同じ環境因子下で発生した異なる肺がんの分生生物学的差異を明らかにし、環境因子の発癌における特性を解明する一助になったと考えられる。今後、さらに症例数を増やしてデータの蓄積を行うことで、肺がん発癌における環境因子関与のメカニズムを分子生物学的にさらに解明することができると考えられる。環境因子の関与がより詳細に明らかになれば、曝露対象への検診強化や、環境因子にリンクした遺伝子変異を標的にした化学予防の創薬の発展につながる可能性がある。

(引用文献) Kawaguchi, T. et al. Prospective Analysis of Oncogenic Driver Mutations and Environmental Factors: Japan Molecular Epidemiology for Lung Cancer Study.

Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical
Oncology. 34, 2247-2257 (2016).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Garassino Marina Chiara, Kawaguchi Tomoya, Gregorc Vanesa, Rulli Eliana, Ando Masahiko, Marsoni Silvia, Isa Shun-ichi, Novello Silvia, Farina Gabriella, Barni Sandro, Torri Valter, Cinquini Michela	4. 巻 3
2. 論文標題 Chemotherapy versus erlotinib as second-line treatment in patients with advanced non-small cell lung cancer and wild-type epidermal growth factor receptor: an individual patient data (IPD) analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ESMO Open	6. 最初と最後の頁 e000327 ~ e000327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/esmoopen-2018-000327	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 該当する
1. 著者名 Yoshimura Naruo, Tada Takuhito, Matsumoto Yoshiya, Sawa Kenji, Yoshimoto Naoki, Suzumura Tomohiro, Tanaka Hidenori, Mitsuoka Shigeki, Kimura Tatsuo, Tamiya Tomohiro, Hirashima Tomonori, Kawaguchi Tomoya, Kudoh Shinzoh, Hosono Masako, Hirata Kazuto	4. 巻 41
2. 論文標題 Dose Escalation Study of Concurrent Chemoradiotherapy With the Use of Involved-field Conformal Radiotherapy and Accelerated Hyperfractionation in Combination With Cisplatin and Vinorelbine Chemotherapy for Stage III Non-small Cell Lung Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 967 ~ 971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/COC.0000000000000412	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 Tamiya Motohiro, Tamiya Akihiro, Shiroyama Takayuki, Takeoka Sawa, Naito Yujiro, Omachi Naoki, Kimura Yohei, Morishita Naoko, Suzuki Hidekazu, Okamoto Norio, Okishio Kyoichi, Kawaguchi Tomoya, Atagi Shinji, Hirashima Tomonori	4. 巻 36
2. 論文標題 Phase1 study of cisplatin plus pemetrexed with erlotinib and bevacizumab for chemotherapy-na?ve advanced non-squamous non-small cell lung cancer with EGFR mutations	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Investigational New Drugs	6. 最初と最後の頁 608 ~ 614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10637-017-0527-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 川口知哉、光岡茂樹、金田裕靖、鈴木倫弘、澤兼士、渡辺徹也、浅井一久	4. 巻 67
2. 論文標題 肺がん薬物療法の歴史とがん免疫療法の発展	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 大阪市医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 7~14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Sawa Kenji, Koh Yasuhiro, Kawaguchi Tomoya, Kambayashi Satoshi, Asai Kazuhisa, Mitsuoka Shigeki, Kimura Tatsuo, Yoshimura Naruo, Yoshimoto Naoki, Kubo Akihito, Saka Hideo, Matsumura Akihito, Wanibuchi Hideki, Yamamoto Nobuyuki, Nishiyama Noritoshi, Hirata Kazuto	4. 巻 112
2. 論文標題 PIK3CA mutation as a distinctive genetic feature of non-small cell lung cancer with chronic obstructive pulmonary disease: A comprehensive mutational analysis from a multi-institutional cohort	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 96~101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2017.07.039	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 Watanabe Masaru, Kawaguchi Tomoya, Isa Shun-ichi, Ando Masahiko, Tamiya Akihiro, Kubo Akihito, Saka Hideo, Takeo Sadanori, Adachi Hirofumi, Tagawa Tsutomu, Kawashima Osamu, Yamashita Motohiro, Kataoka Kazuhiko, Ichinose Yukito, Takeuchi Yukiyasu, Watanabe Katsuya, Matsumura Akihito, Koh Yasuhiro	4. 巻 21
2. 論文標題 Multiplex Ultrasensitive Genotyping of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer for Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutations by Means of Picodroplet Digital PCR	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 EBio Medicine	6. 最初と最後の頁 86~93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2017.06.003	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 Soo Ross A., Kubo Akihito, Ando Masahiko, Kawaguchi Tomoya, Ahn Myung-Ju, Ou Sai-Hong Ignatius	4. 巻 18
2. 論文標題 Association Between Environmental Tobacco Smoke Exposure and the Occurrence of EGFR Mutations and ALK Rearrangements in Never-smokers With Non-Small-cell Lung Cancer: Analyses From a Prospective Multinational ETS Registry	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinical Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 535~542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clcl.2017.01.005	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 該当する

1. 著者名 Tambo Yuichi, Hosomi Yukio, Sakai Hiroshi, Nogami Naoyuki, Atagi Shinji, Sasaki Yasutsuna, Kato Terufumi, Takahashi Toshiaki, Seto Takashi, Maemondo Makoto, Nokihara Hiroshi, Koyama Ryo, Nakagawa Kazuhiko, Kawaguchi Tomoya, Okamura Yuta, Nakamura Osamu, Nishio Makoto, Tamura Tomohide	4. 巻 35
2. 論文標題 Phase I/II study of docetaxel combined with resminostat, an oral hydroxamic acid HDAC inhibitor, for advanced non-small cell lung cancer in patients previously treated with platinum-based chemotherapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Invest New Drugs	6. 最初と最後の頁 217 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10637-017-0435-2	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 -

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 2件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Tomoya Kawaguchi
2. 発表標題 Japan Molecular Epidemiology for lung cancer (JME) study and beyond
3. 学会等名 The 1st Guangdong Association of Thoracic Disease Symposium for Multidisciplinary Therapy of Lung Cancer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akihiro Tamiya, Yasuhiro Koh, Akihito Kubo, Masahiko Ando, Shun-ichi Isa, Hideo Saka, Naoki Yoshimoto, Masakuni Serizawa, Sadanori Takeo, Hirofumi Adachi, Tsutomu Tagawa,
2. 発表標題 Impact of somatic mutations on recurrence free survival (RFS) and overall survival (OS) for resected non-small cell lung cancer (NSCLC): results from the Japan Molecular Epidemiology for lung cancer study (JME)
3. 学会等名 American Society of Clinical Oncology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiya Matsumoto, Kenji Sawa, Jun Oyanagi, Mitsuru Fukui, Naoki Yoshimoto, Tomohiro Suzumura, Shigeki Mitsuoka, Kazuhisa Asai, Tatsuo Kimura, Nobuyuki Yamamoto, Tomoya Kawaguchi, Kazuto Hirata, and Yasuhiro Koh
2. 発表標題 Predictive impact of low-frequency pretreatment T790M mutation in patients with EGFR-mutated non-small cell lung cancer treated with EGFR tyrosine kinase inhibitors
3. 学会等名 American Association of Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. Matsumoto, T. Kawaguchi, K. Sawa, S. Isa, M. Ando, A. Tamiya, A. Kubo, H. Saka, A. Matsumura, Y. Koh
2. 発表標題 Impact of de Novo T790M on Outcome for Resected NSCLC from EGFR Mutant Cohort of Japan Molecular Epidemiology (JME) Study
3. 学会等名 World Congress of Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kawaguchi t
2. 発表標題 molecular epidemiology
3. 学会等名 世界肺癌学会総会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017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	洪 泰浩 (Koh Yasuhiro) (80426519)	和歌山県立医科大学・医学部・准教授 (24701)	