

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：82606

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19594

研究課題名（和文）肺腺がんのドライバー変異発生・転移のタイミング推定

研究課題名（英文）Prediction of timing of driver mutation and distant metastasis in lung adenocarcinoma

研究代表者

河野 隆志（Kohno, Takashi）

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長

研究者番号：80280783

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、同一がん患者の原発腫瘍、転移腫瘍の遺伝子異常の不均一性の情報に基づき数理学的モデリングを行うことにより、個々のがん患者でのドライバー変異発生や遠隔転移の時期の推定を行った。肺がんの原発・脳転移腫瘍14ペアの手術摘出凍結標本の全エクソームシーケンス解析を行い、原発・脳転移腫瘍間の共有変異とそれぞれの腫瘍特異的な変異の数をもとに、CT検診例より得られた細胞増殖率等の因子を加え、推定モデルのプロトタイプを構築した。その結果、個々の症例で異なるドライバー変異発生・転移時期が推定された。この結果は、がんの精密予防・治療の基盤情報となると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「実際の患者ではどのタイミングでドライバー変異が生じたのか？」の情報が本邦集団で得られたならば、がんの予防をいつから行うことが有効であるかという戦略に直結する。また、「実際の患者ではどのタイミングで致死的な転移が生じたのか？」の情報が得られたならば、がんの根治的外科的手術のやり方やその後の治療戦略の改良に資することができる。本研究の成果は、がんの予防や外科的根治治療の精密化の根源となるデータであり、同時に、数理学的モデリングに基づくがんの予防・治療という新たな研究領域の創出につながる」と期待する。

研究成果の概要（英文）：Information on genetic heterogeneity between primary and metastatic tumors in a lung cancer patient was subjected to mathematical modeling to deduce the timing of driver mutation and distant metastasis. Whole exome sequencing data of fourteen pairs of primary and metastatic lung tumors were obtained and used to identify somatic mutations shared by both tumors and those specific for the primary or metastatic lung tumors in each patient. The data coupled with factors reflecting tumor proliferation rates, which were estimated from sequential data of Computed Tomography (CT) examination, enabled the establishment of a prototype model. According to this model, the timing of driver mutation and distant metastasis was indicated to widely vary among cases. The information would be a basis for precision prevention and therapy of lung cancer and would also generate a new area of cancer study translating mathematical modeling in to the clinic.

研究分野：がんゲノム

キーワード：がん 遺伝子 治療標的 発がん

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、これまでに新規ドライバーがん遺伝子遺伝子異常として RET がん遺伝子融合を同定し、医師主導治験に参画することで治療標的としての有用性を示した (Kohno et al, Nat Med, 2012, Yoh et al, Lancet Resp Med, 2017)。また、ドライバー変異と他の遺伝子異常により、臨床がんへと進展・悪性化するという基本的な図式を明らかにしてきた (reviewed in Saito, Cancer Sci, 2016)。しかしながら、がんの予防や外科的切除の根治的な意義を考えるうえで最も重要な情報である「実際の個々の患者ではどのタイミングでドライバー変異が生じ、そして、いつ致命的な遠隔転移を生じるのか?」については未知である。

研究代表者はこれまでの肺がんゲノム解析研究の経験から、個々のがん組織はドライバー変異や併発変異、遺伝子多型などがきわめて多様であるため、治療後の患者の転帰の予測を含めがん精密医療の難しさを感じていた。その中で、逆にその極めて高い個々のがん多様性を利用して「個々のがん患者でのドライバー変異発生、致死をもたらした転移の時期」に対峙する研究ストラテジーを着想するに至った。本研究の連携研究者は、肺がんの経時的 CT 画像データをもとに、肺がん細胞の増殖率を推定し、肺がん進展過程の数理モデルは実データを正確に再現した実績がある (Haeno et al, Cell, 2012)。そこで、お互い連携することで、上記疑問への回答を目的とした本研究の立案・実施に至った。

2. 研究の目的

本研究では、同一がん患者の原発腫瘍、転移腫瘍の遺伝子異常の不均一性の情報、肺がんを外科摘出された CT 検診例の腫瘍増大情報を用いた数理的モデリングを行うことにより、ドライバー変異と遠隔転移のタイミングの推定を行うことを目的とする。モデリングに際しては、できる限り実臨床で得られる、あるいは得やすいデータを構成因子として用い、将来的な臨床現場への導入を目指す。

3. 研究の方法

肺腺がんの原発・脳転移腫瘍 14 ペアの手術摘出凍結標本を全エクソームシーケンス解析に供し、原発・脳転移腫瘍間の共有変異とそれぞれの腫瘍特異的な変異の数、原発・脳転移腫瘍の診断時期、腫瘍体積などの診療情報を用いて数理的モデリングを行い、ドライバー変異の発生時期、真の転移時期を推定した。

使用する肺腺がんの原発・脳転移腫瘍 14 ペアの手術摘出凍結標本のうち、1 ペアについてはすでに研究開始時点で全エクソームシーケンス解析を終了しており、モデリングに耐えうる変異の情報が得られることを確認している。そこで、残り 13 ペアの試料 (非がん組織、原発腫瘍、脳転移腫瘍 DNA) を全エクソーム解析に供し、原発・脳転移腫瘍間の共有変異とそれぞれの腫瘍特異的な変異の数、原発・脳転移腫瘍の診断時期などの診療情報を用いて、ドライバー変異の発生時期、真の転移時期の推定を来なった。

変異の同定に関しては、Mutect2 プログラムを利用し、研究者独自の次世代シーケンスデータからなる pool of normals (PON) を用い、高精度に変異のコールを行った。また、モデル作成に必要な腫瘍増殖率については、腫瘍内 Ki67 染色細胞割合を用い数値化し、解析に供した。

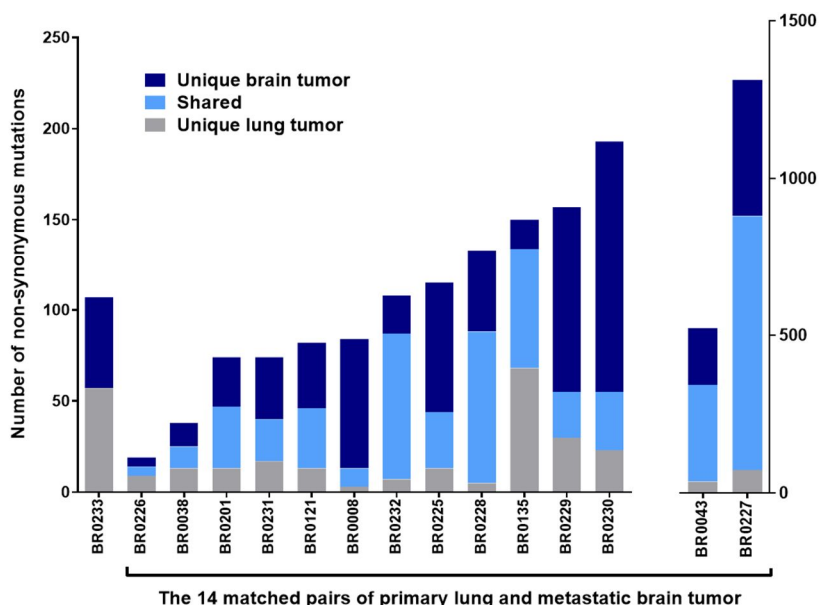
表 1: 本研究のモデル構築に用いた 14 症例の肺腺がん

患者ID	性	年齢	喫煙 (p-y)	ドライバー 遺伝子	Histological TNM	Stage	Time to relapse (months)
BR0038	F	47	0	EGFR変異	pT1bN0M0	IA	45
BR0121	F	52	9	EGFR変異	pT2aN2M0	IIIA	40
BR0225	M	66	70	EGFR変異	pT1bN1M0	IIA	105
BR0227	M	37	0	EGFR変異	pT3N0M0	IIB	7
BR0228	F	61	0	EGFR変異	pT2bN0M0	IB	75
BR0231	M	49	48	EGFR変異	pT2aN1M0	IIA	24
BR0232	M	59	50	EGFR変異	pT2aN1M0	IIA	40
BR0226	F	71	0	KRAS変異	pT2aN0M0	IB	26
BR0135	M	56	60	KRAS変異	pT2aN1M0	IIA	8
BR0201	F	39	0	RET 融合	pT2aN2M0	IIIA	36
BR0008	F	69	0	-	pT2aN1M0	IIA	24
BR0043	M	68	48	-	pT2aN1M0	IIA	5
BR0229	M	64	0	-	pT2aN1M0	IIA	26
BR0230	F	43	0	-	pT2aN3M0	IIIB	22

4 . 研究成果

肺腺がんの原発・脳転移腫瘍 14 ペア試料（非がん組織、原発腫瘍、脳転移腫瘍 DNA）の全エクソームシーケンス解析を行い、原発・脳転移腫瘍間の共有変異 (shared 変異) とそれぞれの腫瘍特異的な変異 (private 変異) の数を算出した。変異数に関しては、14 ペアの症例ごとにさまざまであった。当初、標準的な条件で Mutect2 プログラムを用いたゲノム変異データを取得し、解析に供していたが、ドライバーがん遺伝子遺伝子の検出率が、臨床検査データと比べ低いことに気づき、研究者独自の次世代シーケンスデータからなる pool of normals (PON) を用いることで、より高精度な変異コールを達成した。

PrivateとShared変異



原発・脳転移腫瘍の診断時期、原発・脳転移腫瘍の診断時期などの診療情報を用い、ドライバー変異の発生時期、真の転移時期の推定モデルの構築を行った。推定モデルに関しては、モデル構成因子を変更しながら複数のモデルを構築した。また、個々の腫瘍の腫瘍増殖率が腫瘍内 Ki67 染色細胞割合をもとに数値化できるかを検討するため、一般的な臨床がんよりも、よりゆっくりと増殖する「CT 検査において検出されたすりガラス用陰影」から増大したがん摘出標本と一般的な肺がんとの染色率の比較を行うことで、Ki67 染色細胞割合の構成因子としての authenticity を担保した。

最終的な数理モデルプロトタイプを用いて、各解析症例におけるドライバー変異の発生と転移時期の推定を行った。その結果、両タイミングともに症例間で大きく異なることが示唆された。また、本モデルの検証用として、約 100 例の早期肺がんの全エクソームシーケンス解析を行い、変異データの取得を行っている。一部、変異コールの確認作業に遅延が生じているが、変異データ確定後に、本モデルの検証用データとして用い、プロトタイプの blush up を行う予定である。

「実際の患者ではどのタイミングでドライバー変異が生じたのか？」の情報が本邦集団で得られたならば、がんの予防をいつから行うことが有効であるかという戦略に直結する。また、「実際の患者ではどのタイミングで致死的な転移が生じたのか？」の情報が得られたならば、がんの根治的外科的手術のやり方やその後の治療戦略の改良に資することができる。本研究の成果は、まだまだ予備的であり、様々な方面からの検証を有する。しかしながら、本成果はがんの予防や外科根治治療の精密化の根源となりうるデータであり、同時に、数理的モデリングに基づくがんの予防・治療という新たな研究領域の創出につながるものであると期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Uchida S, Tsuta K, Kusumoto M, Shiraishi K, Kohno T, Watanabe S.	4. 巻 27
2. 論文標題 Radiopathologic correlation of collision lung cancer with ground-glass opacity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Asian Cardiovascular and Thoracic Annals	6. 最初と最後の頁 45 ~ 48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0218492318811549	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 Seki Y, Fujiwara Y, Kohno T, Yoshida K, Goto Y, Horinouchi H, Kanda S, Nokihara H, Yamamoto N, Kuwano K, Ohe Y.	4. 巻 3
2. 論文標題 Circulating cell-free plasma tumour DNA shows a higher incidence of mutations in patients with extrathoracic disease progression EGFR	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ESMO Open	6. 最初と最後の頁 e000292 ~ e000292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/esmoopen-2017-000292	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 Kohno T, Tabata J, Nakaoku T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 REToma: a cancer subtype with a shared driver oncogene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Carcinogenesis	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/carcin/bgz184	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 Mizuno T, Fujiwara Y, Yoshida K, Kohno T, Ohe Y.	4. 巻 14
2. 論文標題 Next-Generation sequencer analysis of pulmonary pleomorphic carcinoma with a CD74-R0S1 fusion successfully treated with crizotinib	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Thorac Oncol	6. 最初と最後の頁 e106-e108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2019.01.005	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kohno T.
2. 発表標題 Genome profile and mutational signature of lung cancer
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kohno T.
2. 発表標題 RET fusion and mutation in lung cancer
3. 学会等名 RET@CRICK meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019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	波江野 洋 (Haeno hiroschi) (70706754)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任准教授 (12601)	