

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18155

研究課題名（和文）大腸癌における革新的治療を目指したARID1A変異の意義と有用性の解明

研究課題名（英文）Investigation of the impact of ARID1A mutation on molecular characteristics in colorectal cancer

研究代表者

徳永 竜馬（TOKUNAGA, Ryuma）

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：20594881

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：我々は大腸癌の臨床病理学的/分子学的特徴に対するARID1A変異の関連性を7978症例の臨床サンプルを用いて検討した。ARID1A変異は右側および早期大腸癌に多く認め、免疫治療に対し効果良好である因子をもち(MSI-high TMB-high PD-L1-high CTL-high)、MSI-highを伴わないARID1A変異大腸癌においてもTMB-high PD-L1-high CTL-highの特徴を認めた。さらにARID1A変異はDNA修復経路に属する遺伝子との共変異を多く認め、化学療法/放射線療法の効果予測因子である遺伝子の発現量と有意に相関していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌は本邦における癌罹患数および臓器別癌死亡数で上位を占め、世界的に研究がすすめられている癌腫である。ARID1Aはクロマチンリモデリング因子であり、各癌腫において比較的高率にその遺伝子変異を認めると報告されている。我々は大腸癌においてARID1A変異がきたす現象変化を明らかにし、新規治療標的を開発することを目標に研究を行った。今回の研究においてARID1A変異が大腸癌における免疫チェックポイント阻害剤および化学療法/放射線療法の効果予測因子である可能性を初めて示すことができた。これは大腸癌のみならず各種癌に対する治療法確立につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The impact of ARID1A mutations on molecular characteristics in colorectal cancer was analyzed using a total of 7,978 clinical samples. ARID1A mutations were associated with right-sided tumor and earlier stage in colorectal cancer. In addition, ARID1A mutant samples had more favorable immune-profiles indicative of a higher likelihood of response to immune check point inhibitors; genomically unstable tumor features (MSI-high and TMB-high) and the characteristics of a T-cell-inflamed microenvironment (PD-L1 expression and high estimated-infiltrating cytotoxic T lymphocytes (CTLs)), than ARID1A wild-type samples. Even ARID1A mutant samples without MSI-high status were TMB-high, had high levels of PD-L1 expression, and high estimated-infiltrating CTLs. With co-occurring mutations and regulating pathways, ARID1A mutations might be a predictive biomarker for chemo/radio-therapy and targeted-therapy.

研究分野：消化器癌(主に大腸癌)における集学的治療および橋渡し研究

キーワード：ARID1A 大腸癌 クロマチンリモデリング因子 マイクロサテライト不安定性 免疫チェックポイント阻害剤

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

大腸癌は本邦における癌罹患数および臓器別癌死亡数で上位を占め、世界的に研究がすすめられている癌腫である。これまでに申請者らは大腸癌における分子学的背景 (genetic change、epigenetic change) や患者および癌の免疫学的背景に注目した実臨床との橋渡し研究に携わってきた。本研究において注目する ARID1A はクロマチンリモデリング因子であり、その変異は癌におけるマイクロサテライト不安定性と強い相関を示す。近年、ARID1A 変異が卵巣癌において免疫チェックポイント阻害剤の効果予測因子になる可能性が報告されたものの、多数の臨床検体を用いてその有用性を示した報告はない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、大腸癌において ARID1A 変異がきたす現象変化を明らかにし、治療のターゲットになりうることを解明することである。ARID1A は各癌腫において比較的高率に遺伝子変異を認めること(大腸癌においては約 10%)から、本研究により大腸癌において ARID1A 変異が治療ターゲットになりうることを明らかにすることができれば、大腸癌のみならず各種癌に対する治療法確立の一役を果たすことができる。

## 3. 研究の方法

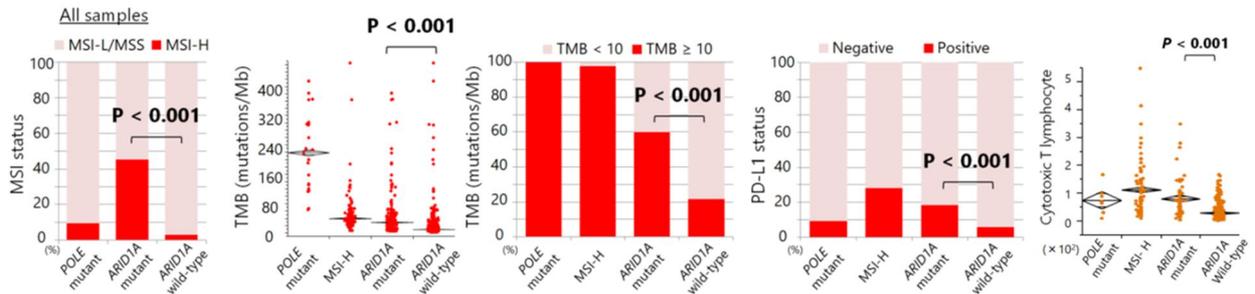
- (1) 多数の臨床検体における ARID1A の遺伝子変異・発現状態を確認し、ARID1A 変異を伴う腫瘍がどのような分子学的・免疫学的・臨床病理学的特徴を持つか、ARID1A 変異が免疫チェックポイント阻害薬の効果予測因子になりうるか、を検討する。
- (2) *in vitro* : ARID1A 高発現株での ARID1A 抑制および ARID1A 低発現株での ARID1A 過剰発現において細胞株における現象変化を検討する。また、ARID1A の発現変化による他シグナルの変化および抗癌剤/分子標的薬感受性変化を検討する。
- (3) *in vivo* : 免疫チェックポイント阻害剤および *in vitro* において ARID1A 変異をもつ細胞株に感受性を示した抗癌剤/分子標的薬の相加効果を確認する。

## 4. 研究成果

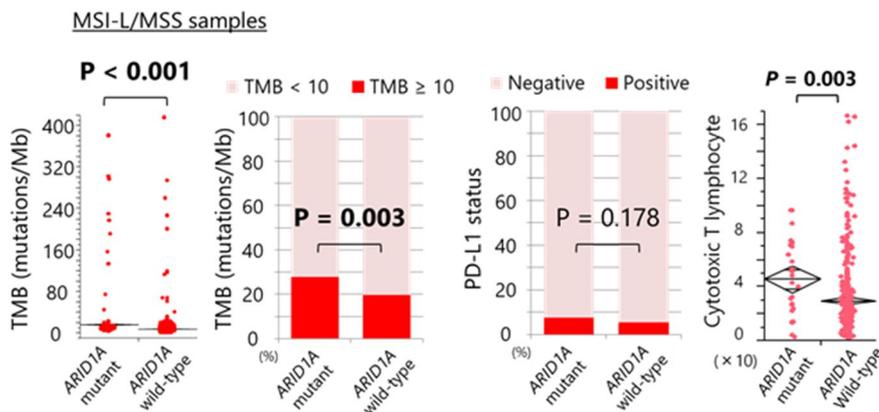
まず、臨床検体を用いて大腸癌の臨床病理学的/分子学的特徴に対する ARID1A 変異の関連性を検討した。2015 年 4 月から 2018 年 3 月までに共同研究者保有の 592 パネルを用いて次世代シーケンシングを行った大腸癌 5,920 症例(探索群)および public database から得られた大腸癌 2,252 症例(検証群)を対象とした。ARID1A 変異と臨床病理学的特徴、免疫関連分子学的特徴[マイクロサテライト不安定性 (MSI)、腫瘍遺伝子変異量 (TMB)、PD-L1 発現量、推定浸潤免疫細胞量]との関連、および ARID1A 変異と関連する遺伝子群、を DNA/RNA シーケンシング、および免疫組織化学検査を用いて解析した。

ARID1A 変異は 8-9%に認め、右側および Stage が早期の腫瘍に有意に多かった。ARID1A 変異を伴う腫瘍は遺伝子的に不安定な特徴(MSI-high、TMB-high)を持ち、PD - L1 が高発現であり

(PD-L1-high)、RNA シーケンシングを用いた解析から細胞傷害性 T 細胞(CTL)の浸潤が高頻度 (CTL-high)であることが推測された。(図 1) また、MSI-high を伴わない ARID1A 変異腫瘍においても同様に TMB-high、PD-L1-high、CTL-high の特徴を認めた。(図 2)



(図 1) ARID1A 変異大腸癌と免疫関連分子学的特徴との関連

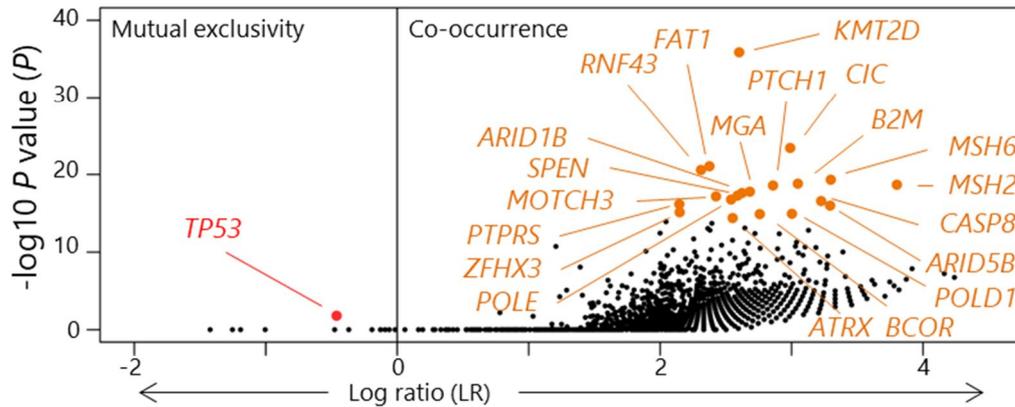


(図 2) MSI-high を伴わない ARID1A 変異大腸癌と免疫関連分子学的特徴との関連

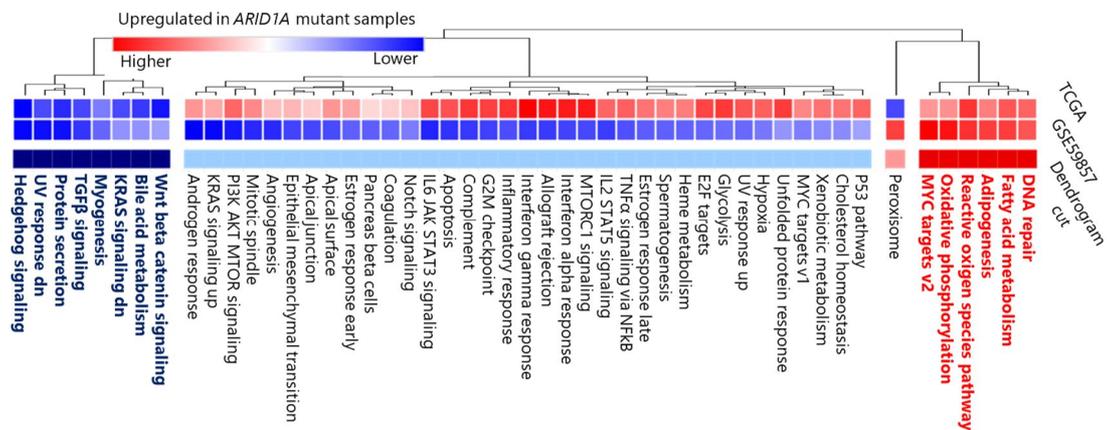
また、ARID1A 変異と他の遺伝子との関連を検索したところ、クロマチン修飾、DNA 修復、WNT シグナル、EGFR 経路に属する遺伝子との共変異を認め、(図 3) パスウェイ解析にても DNA 修復経路と強い相関関係を認めた。(図 4) また、化学療法/放射線療法の効果予測因子である ATM, ATR, RAD50, および BRCA1 の発現量は ARID1A 変異腫瘍において有意に抑制されていた。

Top 20 genes with co-occurring mutation

	<i>KMT2D</i>	<i>CIC</i>	<i>FAT1</i>	<i>RNF43</i>	<i>MSH6</i>	<i>B2M</i>	<i>MSH2</i>	<i>PTCH1</i>	<i>MGA</i>	<i>ARID1B</i>
LR	2.6	3.0	2.4	2.3	3.3	3.0	3.8	2.9	2.7	2.6
P	35.9	23.4	21.1	20.6	19.3	18.8	18.7	18.6	17.8	17.6
	<i>SPEN</i>	<i>NOTCH3</i>	<i>POLE</i>	<i>CASP8</i>	<i>PTPRS</i>	<i>ARID5B</i>	<i>ZFHX3</i>	<i>POLD1</i>	<i>BCOR</i>	<i>ATRX</i>
LR	2.6	2.4	2.5	3.2	2.1	3.3	2.1	3.0	2.8	2.6
P	17.3	17.2	16.8	16.6	16.2	16.0	15.1	14.9	14.9	14.4



(図3) 大腸癌における ARID1A 変異と他の遺伝子変異との関連



(図4) 大腸癌における ARID1A 変異と各遺伝子発現との関連を示したパスウェイ解析

以上より ARID1A 変異は大腸癌において新規治療標的になりうることを示唆された。同内容を論文投稿し、2020 年の European Journal of Cancer に掲載された。in vitro における機能解析および in vivo を用いた化学的な裏付けは、現在研究をすすめている状況である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tokunaga Ryuma, Xiu Joanne, Goldberg Richard M., Philip Philip A., Seeber Andreas, Battaglin Francesca, Arai Hiroyuki, Lo Jae Ho, Naseem Madiha, Puccini Alberto, Berger Martin D., Soni Shivani, Zhang Wu, Chen Sting, Hwang Jimmy J., Shields Anthony F., Marshall John L., Baba Hideo, Korn W.Michael, Lenz Heinz-Josef	4. 巻 140
2. 論文標題 The impact of ARID1A mutation on molecular characteristics in colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 119 ~ 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejca.2020.09.006	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 徳永 竜馬
2. 発表標題 大腸癌の分子特性に対するARID1A変異の影響
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 徳永竜馬、宮本裕士、日吉幸晴、秋山貴彦、大徳暢哉、坂本悠樹、原田和人、江藤弘二郎、長井洋平、岩槻政晃、岩上志朗、吉田直矢、馬場秀夫
2. 発表標題 当院における潰瘍性大腸炎に対する腹腔鏡下大腸全摘術の工夫
3. 学会等名 第44回日本大腸肛門病学会九州地方会・第35回九州ストーマリハビリテーション研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳永竜馬、宮本裕士、日吉幸晴、江藤弘二郎、原田和人、岩槻政晃、長井洋平、石本崇胤、岩上志朗、吉田直矢、馬場秀夫
2. 発表標題 大腸癌患者の術後転帰に対する術前貧血と貧血サブタイプの影響
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------