

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K12071

研究課題名(和文) 計算機シミュレーションによるがんのクローン進化・腫瘍内多様性の解明と予測への挑戦

研究課題名(英文) Elucidation and challenge for the prediction of cancer clonal evolution and intra-tumor heterogeneity by computer simulation

研究代表者

加藤 護 (Kato, Mamoru)

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：40391916

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)：TCGAデータベースにあった73歳の大腸がん男性患者のVAF(変異アレル頻度)データに対してシミュレーションを行い、APC、KRAS、PIK3CAの異常をブロックしてもがん細胞増殖に影響はないが、TP53異常をブロックしたときのみ転移細胞が増殖しないことを予測した(Nagornov and Kato, 2020)。その後、データ表現を細胞ベースからクローンベースにする事で、計算高速化を達成した(Nagornov, et al, 2020)。これまでの点変異に加え、CNA(コピー数異常)と腫瘍率を取り入れたモデルを実装した(manuscript in preparation)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

73歳大腸がん男性患者の実データを例に、遺伝子変異をNGS(次世代シーケンサー)で測定し、腫瘍内不均一性を考慮した数理シミュレーション・モデルを使って、個別化医療を実行する原理的可能性を、世界で初めて示した。どの遺伝子を遮断すればがん細胞が増殖しないか、数値シミュレーションで予測できる。これはすなわち、どの分子標的薬を使えば効果が見込めるかの、シミュレーションを用いた全く新しいタイプの個人化医療である。

研究成果の概要(英文)：We performed cancer-cell evolutionary simulations on VAF (variant allele frequency) data from a 73-year-old male colorectal cancer patient in the TCGA (Cancer Genome Atlas) database, and predicted that blocking APC, KRAS, and PIK3CA aberrations will have no effect on cancer-cell growth, but, when blocking TP53 aberrations, the metastatic cells will not grow (Nagornov and Kato, 2020). Then, we changed the data representation from cell-based to clone-based and achieved great computational speed-up (Nagornov, Nishino, and Kato, 2020). In addition to point mutations, we implemented a model that incorporates CNAs (copy number alterations) and tumor purity (manuscript in preparation).

研究分野：生物情報学

キーワード：がん細胞進化 計算機シミュレーション 個別化医療 がんゲノム医療

1. 研究開始当初の背景

がん組織は組織内において均質ではない。がん細胞間で異なる病理像を呈し、異なるマーカーを発現する。このような腫瘍内多様性は、診断や治療にも影響を与える。このような多様性が発生する原因の一つが、がん細胞ゲノムのクローン進化 (Nowell, *Science*, 1976) である。腫瘍進展において生存に有利な体細胞変異を得たがん細胞が生き残り、がん細胞の多様性が生まれる。近年の次世代シーケンサー (NGS) などの測定技術の進歩と共に、実験データを利用してクローン進化の動態を解明するコンピュータ・シミュレーション・モデルの研究も進展してきた。たとえば申請者は、人口増殖パラメータも取り込んだ β -coalescent simulation モデルを実装した (Kato et al, *Royal Society Open Sci*, 2017)。そして乳がんの 1 細胞ゲノム・シーケンズデータに対し適用して、細胞増殖率や複系統同時合流率を推定した。しかし生物学上最も重要なのは、遺伝子の機能である。従来の全てのモデルでは、遺伝子の機能は陽には表現されておらず、観測データから遺伝子機能に関する情報を得る事はできない。

この問題を克服するため、申請者は遺伝子機能を取り入れた全く新しいクローン進化動態モデルを考案した (Iurii and Kato, *Bioinformatics*, in revision)。そして研究協力者の Iurii Nagornov 博士と共に、プログラムを開発し公開した。がんの遺伝子機能のエッセンスは 6 個 (最新では 10 個) のがんのホールマークにまとめられている (Hanahan and Weinberg, *Cell*, 2000, 2011)。本モデルでは、そのホールマークがアルゴリズムで表現されている。がん関連遺伝子が発異すると、各ホールマークに貢献度パラメータの大きさに応じて、影響を与える。しかしこのモデルを実際の観測データに適正に適用することは、未だ課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、申請者が考案したコンピュータ・シミュレーション・モデル (*tugHall: tumor gene-Hallmark*) (Iurii and Kato, *Bioinformatics*, in revision) を、A) NGS 由来公開観測データに適用して、ホールマークに関わるパラメータと、各がん関連遺伝子の各ホールマークに対する貢献度パラメータを推定し、各がん関連遺伝子の特徴付けを行う事、さらに、B) 各患者に対しこの動態モデルを用いてがん進展の予測に挑戦する事、である。

3. 研究の方法

- (1) 従来は細胞数 10^6 程度までしか計算できなかった。細胞ベースからクローンベースにする事で、計算高速化を図る。
- (2) これまでの変異モデルは暗黙に点変異を仮定しており、しかし、実際のデータは CNA (コピー数異常) の影響で VAF に理論的な値からのずれが生じる。8 割程度の患者データにこの影響が見られる。このため CNA をモデルに取り入れる。
- (3) シミュレーション時間単位や、ホールマークの貢献度パラメータのスケール、シミュレーション初期細胞状態など、モデルに曖昧な部分があり、これらを明確にする。
- (4) パラメータ推定法 ABC の適用法改良を行う。たとえば、事前分布の改良を行う。また、ABC では posterior predictive check のような健全性チェックを行う事が推奨されており、実行する。
- (5) がん細胞数 10^9 に達したとき癌は病理学的に検出され、 10^{12} に達したとき体が耐えきれず死亡する (Friberg and Mattson, *J Surg Oncol*, 1997)。ある患者に対し推測したパラメータでシミュレーションし、細胞数 $10^9 \sim 10^{12}$ までの時間 (物理時間に変換可能) と、診断から実際の死亡までの時間とを比較する事で、予測の妥当性を検証できる。さらに、どの遺伝子を遮断すれば 10^{12} に達するまでの時間を遅らせるか、モデルを使えば予測できる。これはすなわち、どの分子標的薬を使えば効果が見込めるかの、個人化医療である。シミュレーションを用いた全く新しいタイプの個人化医療の実現に挑戦する

4. 研究成果

【初年度】

TCGA (がんゲノムアトラス) データベースにあった 73 歳の大腸がん男性患者の VAF (Variant Allele Frequency, 変異アレル頻度) データに対してシミュレーションを行い、*APC*, *KRAS*, *PIK3CA* の異常をブロックしてもがん細胞増殖に影響はないが、*TP53* 異常をブロックしたときのみ転移細胞が増殖しないことを予測した (Nagornov and Kato, 2020, *Bioinformatics*)。標的遺伝子が *TP53* であったのは残念であるが、より本質的なことは、遺伝子変異を NGS (次世代シーケンサー) で測定し、腫瘍内不均一性を考慮した数理シミュレーション・モデルを使って、

個別化医療を実行する原理的可能性が、世界で初めて示された。その後、データ表現を細胞ベースからクローンベースにする事で、計算高速化を達成した (Iurii S. Nagornov, Jo Nishino, Mamoru Kato, Lecture Notes in Computer Science, 2020)。また、これまでの点変異に加え、CNA (コピー数異常) と tumor purity を取り入れたモデルを考案した。これによって、VAF がある条件を満たさずとも ABC を適用することが出来、適用可能症例が大幅に拡大する。これは現在実装中である。ほか例えば、転移過程の条件を緩和したり、適切なスケージングを行う圧縮係数をホールマーク変数に導入したり、ABC の要約統計量として使用する site の数を増やしたりした。また、幾つかの理論上の課題を解決した。たとえば、これまで不明確であったシミュレーション時間単位と物理時間単位とを結びつける理論計算を行い、例えば今回の場合 1 シミュレーション時間単位が 100 日 (パラメータによっては 50 日) 程度であることが判明した。他に、ABC で観測データと合わせるシミュレーション時刻のタイミングや、出力が全くない場合の妥当性を解決した。

【2年度】

前年度考案した CNA を取り入れたモデルを実装した。また、それに伴って従来の点変異発生過程も改良し、実装した。すなわち、相同 (両親) 染色体の区別をし、さらに CNA を、deletion または duplication による loss または gain とにそれぞれ分けて、deletion と duplication 生成過程を相同染色体上に実装した。また、CNA および tumor purity を考慮した VAF (変異アレル頻度) の計算方法を考案し、実装した。これらによって、必ずしも tumor purity が 100% に近くなく、対象遺伝子にコピー数変異が発生している症例に対しても、適用可能となった。

また、これまで曖昧だったシミュレーション初期細胞数の条件を明確にした。具体的には、正常細胞のターンオーバー数を 0 にする平衡方程式を導き、これを実装した。適用すべき適切な症例データとして、TCGA から大腸がん 2 症例、肺がん 2 症例を選んだ。

ABC 適用の改良として、(1) 事前分布として束縛があって扱いが難しい weight parameter ではなく、それを変換して束縛のない breakpoint parameter を使う、(2) 観測 VAF とシミュレーション VAF の合わせ方の明確化 (検出限界 [eg, 10%] で切って、一方で 0 とならない site を合わせる)、などの技術的工夫をした。

計算機シミュレーションを個別化医療に適用する大きな枠組みである PDCA (計画・実行・評価・改善) サイクルを考案した。

【最終年度】

ロジステック回帰、決定係数・相対誤差を用いたモデルの評価法を実装し、前年度実装した CNA を取り入れたモデルの効果を見るために選出された TCGA 大腸がん患者 1 症例および別のデータセットの 1 症例に対しシミュレーションを実行し、近似ベイズ計算を実行して、各症例の weight parameter の事後分布を得た。そして事後分布の MAP 推定値の下、実装したモデル評価法に基づいてモデルを評価し、その妥当性を検討した。その結果改善すべき点が見つかり、以下の改善を行った。

(1) Weight parameter に対する事前分布を一様分布からディリクレ分布へと改良し、それを実行するアルゴリズムを実装した。(2) より正確な再現のため、事後分布の MAP 推定値だけでなく、a. 事後分布自体 (すなわち posterior predictive check) と、b. ABC で選出された多次元点も使用することとした。(3) 計算を節約するための高速化アルゴリズムを開発した。(4) ホールマークの方程式を極めてシンプルな形で再定式化することに成功した。(5) その結果、ポアソン・サンプリングが導入可能となり、それによってアルゴリズムの簡素化および拡張容易性に成功した。(6) さらにその結果として、従来版では曖昧であった時間を、シミュレーション時間と実時間とで明確に分離することが出来た。これによって、シミュレーション時間の実時間との対応を行うことが出来、たとえばこの症例でがん細胞が 10^{10} に達するのは 3 ヶ月後など、実時間での予測、すなわち、個別化医療実践への道が開けた。7) Drug intervention trial を実装し、各症例に仮想的介入シミュレーション、すなわち、遺伝子の異常を仮想的にブロックしたときの動態をシミュレートした。一遺伝子ブロックだけでなく、併用療法、つまり、2 遺伝子同時ブロックも行った。今後は多数症例に適用してさらなるプログラムの改良を行い、臨床応用へと進む予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 Kohno Takashi, Kato Mamoru, Kohsaka Shinji, Sudo Tomohisa, Tamai Ikuo, Shiraishi Yuichi, Okuma Yusuke, Ogasawara Daisuke, Suzuki Tatsuya, Yoshida Teruhiko, Mano Hiroyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 C-CAT: The National Datacenter for Cancer Genomic Medicine in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Discovery	6. 最初と最後の頁 2509 ~ 2515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2159-8290.CD-22-0417	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 Nagornov Iurii S., Nishino Jo, Kato Mamoru	4. 巻 34
2. 論文標題 Dataset of tugHall simulations of cell evolution for colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Data in Brief	6. 最初と最後の頁 106719 ~ 106719
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dib.2021.106719	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 Nagornov Iurii, Nishino Jo, Kato Mamoru	4. 巻 12508
2. 論文標題 tugHall: A Tool to Reproduce Darwinian Evolution of Cancer Cells for Simulation-Based Personalized Medicine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lecture Notes in Computer Science	6. 最初と最後の頁 71 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-64511-3_7	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 Nagornov Iurii S, Kato Mamoru	4. 巻 36
2. 論文標題 tugHall: a simulator of cancer-cell evolution based on the hallmarks of cancer and tumor-related genes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 3597 ~ 3599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bioinformatics/btaa182	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5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Mamoru Kato
2. 発表標題 Cancer-cell evolution simulator based on genomic data for cancer personalized medicine
3. 学会等名 The 81st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mamoru Kato
2. 発表標題 Cancer-cell evolution simulator based on patient's genomic data for cancer personalized medicine
3. 学会等名 The Japanese Society for Mathematical Biology 2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Iurii Nagornov, Jo Nishino, and Mamoru Kato
2. 発表標題 tugHall version 3.0: a tool to simulate a personal evolution of cancer cells with copy number alterations
3. 学会等名 ISMCO 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Iurii Nagornov
2. 発表標題 tugHall: a tool to reproduce Darwinian evolution of cancer cells for simulation-based personalized medicine
3. 学会等名 ISMCO 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加藤護
2. 発表標題 A simulator of cancer-cell evolution toward a simulation-based personalized medicine
3. 学会等名 78rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

新しい個別化医療の理論 数値シミュレーション型個別化医療
https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/bioinformatics/project/2020_tugHall_01.mp4

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
研究協力者	ナゴルノフ ユーリ (Nagornov Iurii)		

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
---------	---------