

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：83504

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08894

研究課題名(和文) 原発性肺癌と他臓器癌孤立性肺転移との分子病態学的判別法

研究課題名(英文) Discrimination between primary and metastatic lung tumors by genomic profile

研究代表者

後藤 太一郎 (Goto, Taichiro)

地方独立行政法人山梨県立病院機構山梨県立中央病院(がんセンター局ゲノム解析センター)・ゲノム解析センター・研究員

研究者番号：80317148

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子変異profileは各癌固有のclonal markerと考えられる。個々の病変の遺伝子変異パターンの相違を検討することで、原発・転移の判別が可能となる。また、肺癌術後予後に相関するリンパ節転移のphylogenetic patternが同定され、リンパ節転移のgenetic stagingの意義が明らかとなった。一方、多発肺癌の再発時においても、ctDNAの遺伝子変異との一致性を検討することで、原発巣の同定が可能となる。総じて、通常の病理診断に遺伝子学的診断を追加することにより、病態に応じた適切な治療を行うことが可能となり、臨床学的にも有用であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の開発したゲノム診断法は、がんの本質である遺伝子変異に着目し、DNAシーケンスデータに基づき、従来の病理診断よりも格段に正確な診断が可能と考えている。すなわち、DNAデータの統計学的処理により、原発、転移の判定がほぼ100%の精度を持って判定され得る点が斬新・画期的と言える。本研究が臨床応用されることにより、正確な診断に基づき、適正な治療が施行されるようになり、該当患者の治療成績が根本的に改善され得ると考える。さらに、他臓器癌の肺転移、あるいは異時性原発性肺癌において、これら診断法に基づき、新たな治療体系が構築されることを期待している。

研究成果の概要(英文)：The gene mutation profile is considered a clonal marker unique to each cancer. By examining the differences in gene mutation patterns of individual lesions, it is possible to discriminate between primary and metastatic disease. In addition, phylogenetic patterns of lymph node metastases that correlate with postoperative prognosis of lung cancer were identified, and the significance of genetic staging of lymph node metastases was clarified. On the other hand, even at the time of recurrence of multiple lung cancers, the primary tumor can be identified by examining the consistency with genetic mutations in ctDNA. In general, the addition of genetic diagnosis to the usual pathological diagnosis is shown to be clinically useful, as it enables appropriate treatment according to the pathological condition.

研究分野：肺癌遺伝子変異解析

キーワード：肺癌 肺転移 遺伝子変異 次世代シーケンサー 進化系統樹 血中遊離DNA

1. 研究開始当初の背景

近年、国内外で肺癌患者数は増加の一途を辿り、手術成績の向上や高齢化社会とも相俟って、他臓器癌の治療歴のある患者に肺腫瘍が発生するケースが増加している。このように、過去に他臓器癌の治療を行った患者に肺腫瘍が出現した場合、原発性肺癌、あるいは、孤立性肺転移の可能性があり、病態に応じて選択すべき治療は異なる。例えば、食道癌術後の孤立性肺転移に対しては、肺部分切除術後に食道癌の化学療法を行うのが一般的であるが、食道癌術後の原発性肺癌であれば、肺葉切除術を行い、原則として術後化学療法は必要ない。一方、画像所見や病理学的所見で両者の判別が困難な症例もあり、治療選択に苦慮することが多い。このように、原発性肺腫瘍と孤立性転移性肺腫瘍との鑑別に関しては、長年、呼吸器外科の領域で議論されるも、従来の方法では解決に至らず、臨床の現場において大きな混乱を来す原因になっていた。従来の方法では、画像所見や臨床経過、病理所見を基に、原発の可能性が高い、あるいは、転移性腫瘍の可能性が高い、など診断医(臨床医、放射線科医、病理医)の主観に基づき、症例ごと個別に診断されていた。また、複数の診断医によって意見が分かれることもしばしば見受けられ、確定診断によらず不確かな診断に応じてその後の治療が行われていた。結果として、診断がその後の臨床経過と合致せず、実際には診断や治療が間違っていたケースも相当存在すると推定される。

我々は、以前、多発肺癌における原発・転移の分子病態学的判別法を開発し、英文誌に論文発表してきた。その研究において、癌が保有する遺伝子変異プロファイルは各癌固有の clonal marker になり得ること、その相違を検討することで、原発・転移の判別ができ、病態に応じた適切な治療・予後予測が可能となることを報告した。我々の方法では、各腫瘍の遺伝子変異を網羅的に解析し、先ず trunk mutation を同定し、それら trunk mutation の profile を比較し、clonality の一致・不一致を判定する。がん病態の本質が遺伝子変異にある以上、この診断基準は、従来の確立論的、示唆的なものではなく、理論的、決定的、本質的なものと言える。さらに、測定 assay は次世代シーケンサーのみであり、解析結果をヒートマップに示せば、直感的・容易な診断が可能である。我々が行った多発肺癌における遺伝子学的診断では、37 症例の多発肺癌の検討において、11 症例(29.7%)で従来の診断法と異なる診断が得られた。本研究を論文発表後、世界各国の研究者・診療医より問い合わせや論文引用を多数受けており、今後、本法が標準診断法として臨床の場に普及する可能性が高いと考えている。今回、これらの知見や適応を拡大し、他臓器癌の孤立性肺転移と原発性肺癌との鑑別に応用することを考えた。臨床の場において、他臓器癌治療後の肺腫瘍出現はしばしば経験する病態であり、本研究の汎用性・臨床的意義は大きいと推察する。

2. 研究の目的

(1) 他臓器癌の治療歴を有する患者に孤立性肺結節が出現した場合、他臓器癌肺転移、あるいは、原発性肺癌の両者の可能性があり、病態に応じて選択すべき治療法や術式は異なる。一方、画像所見や病理学的所見でその判別が困難な症例もあり、治療選択に苦慮することが多い。今回、腫瘍検体の次世代シーケンサー解析により他臓器癌肺転移/原発性肺癌の診断を試み、その有効性、妥当性を検討した。

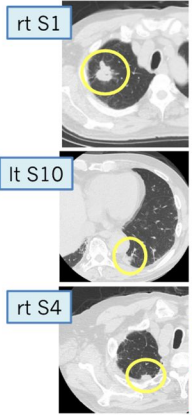
(2) 肺癌の術後再発・予後はリンパ節転移の有無・部位と相関するが、精密な病理学的検査を施行しても個々の患者の予後を正確に予測することは困難である。本研究では、肺癌原発巣および転移リンパ節の遺伝子変異を解析し、phylogenetic tree を作成し、予後に関わる遺伝子学的プロファイルを同定することを目的とした。

(3) 我々は、以前、多発肺癌において、遺伝子変異の相違を検討することで、原発・転移の判別が可能となり、病態に応じた適切な治療・予後予測を行うことができることを報告してきた。一方、二重原発性肺癌の症例で再発が出現したとき、再発部位によっては組織診断が困難であり、原発巣の同定ができず、治療選択(分子標的薬、免疫療法チェックポイント阻害剤など)に苦慮することが多い。今回、再発時患者 plasma 中の circulating tumor DNA (ctDNA) の次世代シーケンサー解析により原発巣の同定を試み、その有効性、妥当性を検討した。

3. 研究の方法

(1) 他臓器癌の治療歴を有し、孤立性肺結節に対して手術を施行した 24 症例を対象とした。他臓器癌原発巣、および、肺腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋標本からレーザーキャプチャーマイクロダイセクション法により腫瘍細胞を回収し、DNA を抽出した。院内で作成した cancer panel を用いて次世代シーケンス解析を行った。遺伝子変異のクラスター解析を行い、遺伝子変異パターンを統計学的に比較検討した。

(2) 2014 年 5 月から 2021 年 3 月まで、肺癌に対してリンパ節郭清を伴う肺葉切除術を当院で施行し、術後病理診断でリンパ節転移(n1-2)が確認された計 61 症例を対象とした。肺癌原発巣および転移リンパ節の FFPE 標本からレーザーキャプチャーマイクロダイセクション法により癌細胞を回収し、DNA を抽出、それぞれの検体に対して target sequencing を行い、mutation profile を各検体で比較した。In silico 解析により phylogenetic tree を作成し、肺癌の転移



gene	coding	Right S1	Left S10	Right S4	cDNA
TP53	c.1137G>	16.96			
BPTFB		15.93			
TP53	c.873AG>		33.03		
BPTFB	c.162G>164G #AATAAAGACT TTTGTGATA		31.15		
ATM	c.2371G>T		29.28		
KMT2D	c.1188CC>T		7.98		
BPTFA1	c.727GG>T		6.47		
NF1	c.1482C>T		3.76		
BPTFCBAP1	c.1115G>N61 2955A		2.92		
RB1	G7381	16.96	33.37		
FGFR2	c.873A>C	20.76	42.15		
KRAS1	c.432G>T	30.92			
TP53	c.816C>T	15.32			
NOTCH1	M94	15.23	14.72		
673			15.11	13.75	
BRN3B	c.1846G>A		4.30		
BRN3A	c.3732G>T		5.43		
ARHGAP1	c.1846G>A		4.71	6.17	
TSC1	c.1237AG>C			11.15	
KMT2A	c.732AG>A			23.96	
MGA	c.728A>G			3.88	
FGFR2	c.1387C>			3.82	
KMT2D	c.1691C>T			2.46	
KMT2D	c.1184AG>T			2.46	
MEIS2	c.1315A>C			2.23	

Triple primary Cancer

Liver metastases of right S4 cancer

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 後藤太一郎
2. 発表標題 他臓器癌孤立性肺転移/原発性肺癌の分子病態学的判別法
3. 学会等名 第60回 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------	---------