

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19938

研究課題名(和文) 網羅的プロテオミクスとジェノミクスによる肺癌リンパ節転移機構の解明と新分類の提唱

研究課題名(英文) Proposal for lung adenocarcinoma classification based on comprehensive genetic analysis using next-generation sequencer

研究代表者

伊藤 正興 (Ito, Masaoki)

広島大学・病院(医)・医科診療医

研究者番号：80526236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：現行の肺癌stagingは腫瘍の大きさや転移の有無・場所で規定され、それを参考に治療方針が決まる。肺腺癌治療は分子標的薬剤が広く使われ、使用の可否は特定の遺伝子形態の有無によるが、現行のstagingは遺伝子形態の有無は考慮しない。本研究では分子標的薬剤使用の指標となる遺伝子形態の発現が、肺癌切除後の再発因子と判明し、さらに次世代シーケンサーによる遺伝子の網羅的解析で原発巣と転移巣に同様に存在すると判明した。この結果に基づき、遺伝子形態の有無で過去の肺腺癌症例を層別化すると遺伝子形態の有無が再発後の予後に関係しており、特定の遺伝子形態の有無による腺癌の新たな分類方法の提唱に至った。

研究成果の概要(英文)：Current staging system of lung cancer employs tumor size and status of metastatic site as its descriptors. Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) have been widely used for adenocarcinoma (Ad) and its indication depends on the existence of specific genetic variants. However, genetic status is not considered in staging system.

We revealed targetable genetic variant itself is associated with recurrence in stage I lung Ad. And next-generation sequencer (NGS) revealed genetic status of primary site and metastatic site are similar. Based on the NGS result, we could classify nodal positive Ad cases according to the genetic status of primary site. Although cases harboring genetic variants indicated the tendency of shorter recurrence-free interval, they showed significantly prolonged survival after recurrence due to receiving TKIs.

Classification based on genetic status is rational and genetic status should be considered as a risk factor for recurrence and directly related to treatment and prognosis.

研究分野：肺癌

キーワード：原発性肺癌 staging 腺癌 遺伝子変異 次世代シーケンサー

1. 研究開始当初の背景

現行の肺癌 TNM 分類は世界中で広く使用されており、病態の評価のみならず治療方針の決定に用いられることが多い。現在は肺癌の治療に分子標的薬剤が用いられることが多くなっており、使用の可否は特定の遺伝子変異の有無を考慮する必要がある。ただし、現行の分類は腫瘍の大きさや転移の有無や部位により規定され、治療方針決定に大きくかわる遺伝子変異の有無は考慮されていない。

2. 研究の目的

分子標的薬剤の対象となりうる遺伝子の変異やその遺伝子変異に伴う蛋白の発現を同定し、それらの発現が予後因子になるかを検討した上で肺癌を層別化することで、現行の分類方法よりも治療方針の決定により直接的に関係し得る肺癌の分類方法を提唱する。

3. 研究の方法

肺癌臨床検体を用いて、次世代シーケンサーによる遺伝子解析とプロテオミクスによる蛋白質解析を行う。原発巣と転移巣で遺伝子と蛋白質の発現を比較し、腫瘍の進展部位である転移巣で特異的に発現する遺伝子変異や蛋白質を分類に用いる候補として検討を行う。

また遺伝子変異や蛋白質による分類の妥当性も、分類に用いるのとは別のコホートをを用いて予後・治療方針の観点から検討する。

4. 研究成果

最初に既存の分子標的薬の治療対象となる遺伝子変異について、予後因子の側面から検討を行った。肺腺癌 stage I では再発し得ない特定の組織型と EGFR 変異を有さない特殊型を除いて解析することで、EGFR 変異の存在自体が完全切除後の再発因子となることが判明した。

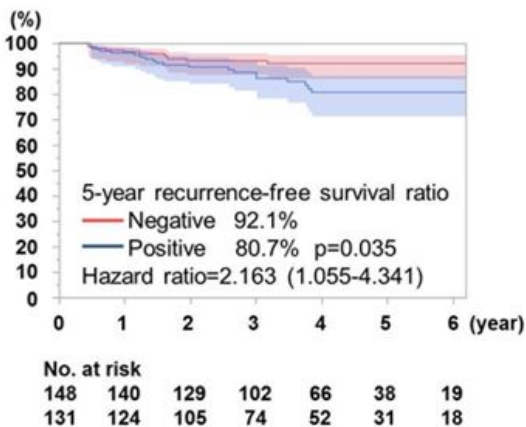


図1 stage I 腺癌での EGFR 変異有無による 5 年無再発生存率の比較

続いて、次世代シーケンサー (NGS) による

遺伝子解析を行ったが、原発巣と転移巣に差異はなく、むしろ転移巣では遺伝子変異の発現が原発巣に比べて少ない傾向にあり、プロテオミクスによる蛋白質解析は効果が乏しいと判断されたため行わなかった。

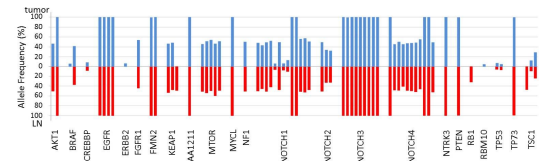


図2 NGS に基づいた肺癌原発巣とリンパ節巣の遺伝子変異発現と頻度の比較

NGS の結果については解析方法により発現のプロファイルが異なってくるが、妥当性については腺癌の原発巣と転移巣を検討した際に別のコホートをを用いて同時に行った NGS の結果で検証している。

我々の行った NGS の結果解析では、従来は EGFR 変異がないとされる肺の神経内分泌腫瘍で EGFR 変異が検出され、実際にその症例で EGFR-TKI が奏功しており、解析結果の正当性は得られている。

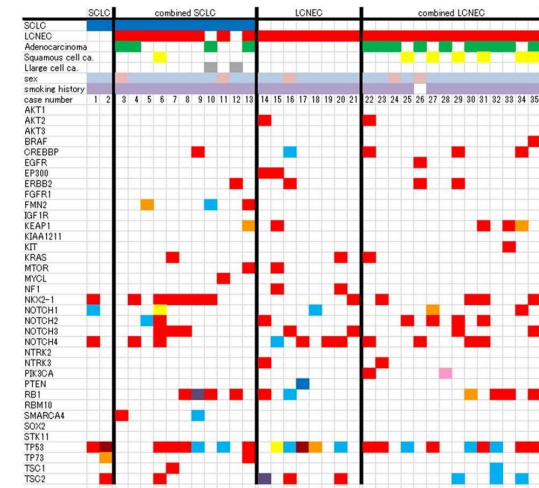


図3 NGS を用いた遺伝子プロファイル

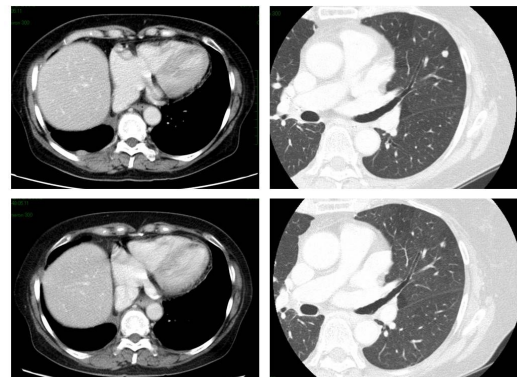


図4 神経内分泌腫瘍の再発巣(上段)と EGFR-TKI 投与後の腫瘍の縮小(下段)

この NGS 結果を踏まえて肺腺癌リンパ節転移陽性症例の分類を行った。

NGS では検証できなかった肺癌原発巣とリンパ節巣症例において、EGFR 変異の有無については NGS 結果同様に 80%以上の高い確率で一致しており、ALK 転座の発現は 100%一致していた。

実際にリンパ節転移陽性の肺腺癌を原発巣の遺伝子変異・転座の有無で分類すると、遺伝子変異・転座を有する方が再発までの期間が短い傾向にあったが、再発後の予後は分子標的薬剤を投与された症例の方が投与されなかった症例に比べて有意に長かった。

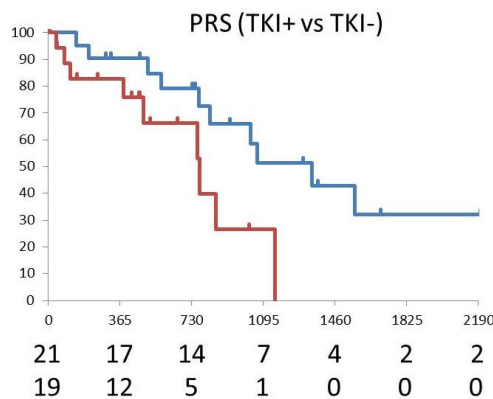


図 5 分子標的薬剤の投与有無による再発後生存率の比較

以上より分子標的薬剤の対象となる遺伝子変異・転座の発現は早期癌でも進行癌でも再発の危険因子になり、再発後に分子標的薬剤の投与により予後を延長されることから、遺伝子変異の発現による分類は再発予測や治療方針に関わる有効な分類方法であると結論付けられた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計1件)

Masaoki Ito, EGFR is predictive status for recurrence in early lung adenocarcinoma, Third International Joint Meeting in Thoracic Surgery, 18-20 November 2015, Barcelona, Spain

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 正興 (Ito Masaoki)
広島大学・病院(医)・医科診療医
研究者番号: 80526236

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者

岡田 守人 (Okada Morihito)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授
研究者番号: 70446045

宮田 義浩 (Miyata Yoshihiro)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・准教授
研究者番号: 50397965

津谷 康大 (Tsutani Yasuhiro)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教
研究者番号: 10534985

三隅 啓三 (Misumi Keizo)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・医科診療医
研究者番号: 00557077

岸 直人 (Kishi Naoto)
広島大学・医歯薬学総合研究科博士課程創生医科学専攻・大学院生

上田 大介 (Ueda Daisuke)
広島大学・医歯薬学総合研究科博士課程創生医科学専攻・大学院生

平野 尚子 (Hirano Shoko)
広島大学・自然科学研究支援開発センター
ー・生命科学実験部門

木村 真吾 (Kimura Shingo)
広島大学・自然科学研究支援開発センター
ー・生命科学実験部門

入砂 文子 (Irisuna Fumiko)
広島大学・自然科学研究支援開発センター
ー・生命科学実験部門

池田 今日子 (Ikeda Kyoko)
広島大学・自然科学研究支援開発センタ
ー・生命科学実験部門