

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07284

研究課題名(和文) がん組織で見出されるEBVは未知のがんサブタイプ形成に関与するか

研究課題名(英文) Is EBV found in cancer tissues involved in the formation of unknown cancer subtypes?

研究代表者

大保木 啓介 (OBOKI, Keisuke)

公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医学研究センター・副参事研究員

研究者番号：80415108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：EBウイルス関連胃癌の予後については、まだ議論の分かれるところである。TCGA-胃癌プロジェクトでは、EBV分子サブタイプは複数の次世代シーケンシング法を組み合わせで決定されたが、異なるアプローチで検出されたEBV陽性率との整合性について疑問を残している。そこで我々は375の腫瘍と32の正常サンプルを含む公共RNAシーケンシングデータセットを再解析し、EBVリードの信頼できる閾値を定義した。病理学的サブタイプに対するEBVの予後への影響についても分析し、再解析により同定されたEBV陽性症例は、浸潤リンパ球シグネチャとは独立していて、全症例のほぼ半数を占めていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

EBウイルスががん細胞中に認められる胃癌サブタイプが知られる。これまで、EBVに由来するRNAが非常に多い場合のみが注目されてきたが、EBVは170000塩基を超えるゲノムを有し、そこに多くの遺伝子を有していて、その転写は一樣では無い可能性がある。そのため、大量のRNA分子を解析することで、ごく微量のEBV RNAを検出し、これが新しい胃癌の予後予測因子となる可能性を示唆できた。

研究成果の概要(英文)：The prognosis of EBV-associated gastric cancer (EBVaGC) is still controversial.

In the TCGA-gastric cancer project, EBV molecular subtypes were combined with multiple next-generation sequencing (NGS) methods, but questions remain about the consistency of EBV positivity rates detected by different approaches. Therefore, we reanalyzed a public RNA sequencing dataset containing 375 tumor and 32 normal samples to define a reliable threshold for EBV reads. The prognostic impact of EBV on pathological subtypes was also analyzed. EBV-positive cases identified by the reanalysis were independent of infiltrating lymphocyte signatures and accounted for almost half of all cases, with longer overall survival in adenocarcinoma, NOS, and longer overall survival in tubular Adenocarcinoma and NOS, and shorter in Tubular adenocarcinoma.

研究分野：腫瘍学

キーワード：EBウイルス

1. 研究開始当初の背景

ウイルス感染を直接の原因とするがんは、日本の年間発症がん患者の 2 割に及ぶ (Lancet Oncol. 2012;13:607)。「がんウイルス」には、HPV、HCV、HBV、HTLV、EBV、KSHV、MCPyV が知られる。HBV の発見 (1976 年、ブランバーク)、HPV の発見 (2008 年、ツアーハウゼン) がそれぞれノーベル賞を受賞、2017 年ラスカー臨床医学研究賞は HPV ワクチン開発の功績によりシラーとローウィに与えられるなど、がんウイルス研究は医学・公衆衛生へのインパクトも大きい。EBV は、初のヒトがんウイルスとしてバーキットリンパ腫患者から発見され (Lancet. 1964;1:702)、その後、ツアーハウゼンを含む多くの研究者が解析を進めてきた。EBV 研究が進むにつれ、EBV が直接の原因と考えられるがん (バーキットリンパ腫、上咽頭がん) と、全体の 1-3 割程度でのみ EBV が検出され、特有のがん形質を呈する“サブタイプ”としての「EBV 関連がん」があることが明らかとなってきた。EBV の別名はヒト・ヘルペスウイルス 4 であり潜在ウイルスの 1 つである。よく知られるように、EBV は成人までにほとんどのヒトで感染が認められ、(おそらく免疫監視の目を掻い潜った結果) エピソームとして B 細胞内に長期間にわたって無症候性に潜伏・共生する。しかし、今もこのありふれたウイルスが、どのようなきっかけで上皮性のがんに関わるのかは完全には理解されていない。ただし、EBV はリンパ球から上皮細胞へも感染することができると考えられており、実際に胃がんの 1 割程度に、EBV が検出される例が報告され (Mod Pathol. 1990;3:377, Am J Pathol. 1991;139:469)、その後の研究の結果、EBV 陽性胃がんは「EBV 関連胃がん」として分類されている。近年の大規模ゲノミクス研究からも、この EBV 関連胃がんが、特徴的な分子プロファイルを示す胃がんサブタイプの 1 つであることが示され (Nature 2014;513:202)、EBV が胃がん形質をエピジェネティックに修飾する機序の理解も進んでいる (World J Gastroenterol. 2014;20:3916)。

2. 研究の目的

本研究では、独自収集試料とその解析データ、および、The Cancer Genome Atlas (TCGA) で提供されている各種大規模解析データを利用して、EBV 弱陽性がんにおける、EBV 関連プロファイルを検証することで、新しい EBV 関連がんサブタイプを明らかにするとともに、EBV 弱陽性がんで生じているがん形質の特徴と分子機序に迫る。

3. 研究の方法

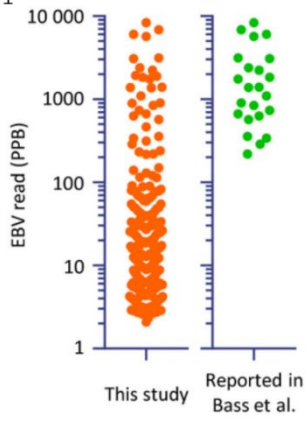
TCGA データを用いた解析

- (1). TCGA の制限公開データ (RNASeq) を NIH GDC data portal をダウンロードして使用
- (2). TCGA RNASeq データ解析 (がん 37 種のウイルス同定)

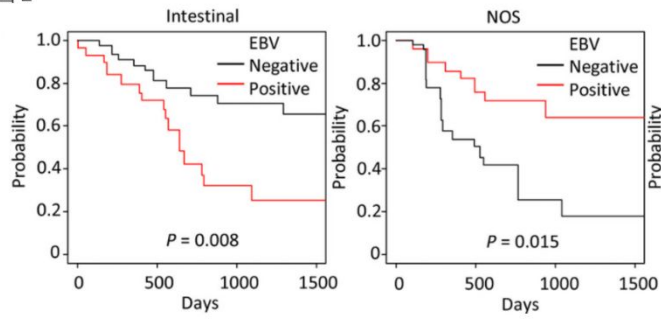
4. 研究成果

EB ウイルス関連胃癌 (EBVaGC) は EBV 由来の EBER1/2 small RNA の in situ ハイブリダイゼーションにより診断される。The Cancer Genome Atlas (TCGA) Stomach Adenocarcinoma (STAD) プロジェクトでは、EBV 分子サブタイプは複数の次世代シーケンシング法 (NGS) を組み合わせで決定されたが、ゴールドスタンダードの in situ ハイブリダイゼーション法では決定されなかった。このことは、異なるアプローチで検出された EBV 陽性率の不一致やシーケンシングリードの閾値に関する疑問を残していると考えられる。そこで我々は 375 の腫瘍と 32 の正常サンプルを含む TCGA-STAD RNA シーケンシング (RNA-seq) データセットを、我々の解析パイプラインを使用して再解析し、3 回のランダムなアラインメントで EBV ゲノムにマッピングすることで、EBV 由来の NGS リードの信頼できる閾値を定義した。胃がんの病理組織学的サブタイプに対する EBV の予後への影響についても分析し、再解析により同定された EBV 陽性症例は、浸潤リンパ球シグネチャとは独立して、全症例のほぼ半数 (49.6%) を構成し (図 1)、全生存期間は、Adenocarcinoma, NOS では有意に長く ($P = 0.016$, HR : 0.476 ; 95%CI : 0.260-0.870)、Tubular adenocacinoma では有意に短かった ($P = 0.005$; HR : 3.329 ; 95%CI : 1.406-7.885) (図 2)。RNA-seq 解析から導かれた EBV 陽性例では、胃がん患者の予後について、病理組織学的サブタイプに応じて異なる結果を示しており、予後予測に利用できる可能性を示唆した。

☒ 1



☒ 2



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 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Daichi Sadato, Mina Ogawa, Chizuko Hirama, Tsunekazu Hishima, Shin-Ichiro Horiguchi, Yuka Harada, Tatsu Shimoyama, Masanari Itokawa, Kazuteru Ohashi, Keisuke Oboki | 4. 巻 10(3): |
| 2. 論文標題 Potential Prognostic Impact of EBV RNA-seq Reads in Gastric Cancer: A Reanalysis of The Cancer Genome Atlas Cohort | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 FEBS Open Bio | 6. 最初と最後の頁 455-467 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12803 | 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 Okada N, Nakayama T, Asaka D, Inoue N, Tsurumoto T, Takaishi S, Otori N, Kojima H, Matsuda A, Oboki K, Saito H, Matsumoto K, Yoshikawa M. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Distinct gene expression profiles and regulation networks of nasal polyps in eosinophilic and non-eosinophilic chronic rhinosinusitis. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Int Forum Allergy Rhinol. | 6. 最初と最後の頁 592-604 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/alr.22083 | 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 Sadato D, Ono T, Gotoh-Saito S, Kajiwara N, Nomura N, Ukaji M, Yang L, Sakimura K, Tajima Y, Oboki K, Shibasaki F. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Eukaryotic translation initiation factor 3 (eIF3) subunit e is essential for embryonic development and cell proliferation. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 FEBS Open Bio. | 6. 最初と最後の頁 1188-1201 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12482. | 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 Yuho Najima, Daichi Sadato, Yuka Harada, Keisuke Oboki, Chizuko Hirama, Takashi Toya, Noriko Doki, Kyoko Haraguchi, Kota Yoshifuji, Megumi Akiyama, Kyoko Inamoto, Aiko Igarashi, Takeshi Kobayashi 1, Kazuhiko Kakihana 1, Yoshiki Okuyama, Hisashi Sakamaki, Hironori Harada, Kazuteru Ohashi | 4. 巻 56(2) |
| 2. 論文標題 Prognostic impact of TP53 mutation, monosomal karyotype, and prior myeloid disorder in nonremission acute myeloid leukemia at allo-HSCT | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant | 6. 最初と最後の頁 334-346 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-020-01016-9 | 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 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 貞任大地、大保木啓介、原田結花、堀口慎一郎、平間千津子、小川美奈、下山達 |
| 2. 発表標題 胃がんサブタイプにおけるEBV陽性胃がん予後への異なる影響：TCGA RNA Seqデータセットの再分析 |
| 3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 貞任大地、小川美奈、平間千津子、比島恒和、堀口純一郎、原田結花、下山達、大橋一輝、糸川昌成、大保木啓介 |
| 2. 発表標題 胃がんサブタイプにおけるEBV陽性胃がん予後への異なる影響：TCGA RNA Seqデータセットの再分析 |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会学術集会 |
| 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|