

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08612

研究課題名(和文) 発癌の分子メカニズムの違いに着目した大腸癌TGF-シグナル伝達経路の新たな分類

研究課題名(英文) The new classification of colorectal cancer focusing on differences of molecular mechanisms in TGF- $\beta$  signal pathway

研究代表者

島田 能史 (Shimada, Yoshifumi)

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：20706460

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)：我々は、TGF-シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌を、「TGFBR2もしくはACVR2Aに遺伝子変異をもつ群(受容体変異群)」と「SMAD2もしくはSMAD4に遺伝子変異をもつ群(調節因子変異群)」とに分類し、それぞれの臨床病理学的特徴について解析した。受容体変異群は、免疫療法の効果が期待されるTumor mutational burden-high (TMB-H)大腸癌と関連していることを明らかとし、TMB-H大腸癌を予測する人工知能を開発した。調節因子変異群であるSMAD4は、大腸癌発育先進部における低分化胞巣と関連し、大腸癌の予後不良因子であることを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、TGF-シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌の臨床病理学的特徴を明らかにしたことによって、分子サブタイプによる新たな大腸癌の分類の基盤形成を行ったことである。

本研究の社会的意義は、TMB-H大腸癌を予測する人工知能を開発したことによって、低コストで大腸癌の個別化治療を推進するモデルを提案したことである。また、大腸癌のドライバー遺伝子変異の一つと考えられるSMAD4遺伝子変異の臨床病理学的特徴を明らかにしたことによって、SMAD4遺伝子変異を標的とした新たな治療開発の基盤形成を行ったことである。

研究成果の概要(英文)：We classified colorectal cancer (CRC) with abnormalities in the TGF-signaling pathway into TGFBR2/ACVR2A mutation group (“Receptor mutation group”) or SMAD2/SMAD4 mutation group (“Regulator mutation group”). We demonstrated that “Receptor mutation group” was associated with tumor mutational burden-high (TMB-H) CRC, which is expected to be effective for immunotherapy, and developed artificial intelligence to predict TMB-H CRC. SMAD4, “Regulator mutation group”, was associated with poorly differentiated clusters, and was associated with poor prognosis in CRC.

研究分野：消化器外科

キーワード：大腸癌 TGF- TGFBR2 ACVR2A SMAD2 SMAD4 TMB-H 低分化胞巣

## 1. 研究開始当初の背景

TGF-β シグナル伝達経路は、癌細胞に対する増殖抑制効果を示すことで知られており、大腸癌では発癌に関与する経路である。興味深いことに、TGF-β 経路に異常を有する大腸癌には、2つの異なる発癌メカニズムが存在する。すなわち、TGF-β2 型受容体 (*TGFBR2*) やアクチビン 2 型受容体 (*ACVR2A*) などの受容体に遺伝子変異を有する群 (受容体変異群) と、シグナル伝達の調節因子である *SMAD2* や *SMAD4* に遺伝子変異を有する群 (調節因子変異群) とが存在する (図 1)。

受容体変異群の発癌には、ミスマッチ修復遺伝子異常によるマイクロサテライト不安定性 (MSI) が関与している。近年、MSI を伴う大腸癌に対しては、免疫チェックポイント阻害剤である抗 PD-1 抗体が有効であるとの報告がなされ、注目を集めている。一方、Adenoma-carcinoma sequence で有名な *SMAD4* 遺伝子変異を有する調節因子変異群の発癌には、多段階発癌経路が関与している。大腸癌における *SMAD4* 変異型大腸癌に対する分子標的治療は確立しておらず、その臨床的意義も明らかではない。

以上の学術的背景を踏まえた、本研究課題の核心をなす学術的「問い」は、「大腸癌 TGF-β シグナル伝達経路において、従来の組織学的特性に基づく癌の分類に、次世代シーケンサーにより検出される遺伝子変異情報を加えることで、臨床上有用な新しい分類が構築できるのか?」という点である。

申請者らは、この問いを明らかにするために「TGF-β シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌は、シグナルの受容体である *TGFBR2* もしくは *ACVR2A* に遺伝子変異をもつ群 (受容体変異群) と、細胞内におけるシグナル伝達の調節因子である *SMAD2* もしくは *SMAD4* に遺伝子変異をもつ群 (調節因子変異群) とに分類することができる」という仮説を立てて、本研究を企画した。

## 2. 研究の目的

「受容体変異群と調節因子変異群について、病理像・臨床像・人種差・蛋白質発現を解析し、発癌の分子メカニズムの違いに着目した大腸癌 TGF-β シグナル伝達経路の分類における研究基盤を確立すること」である。

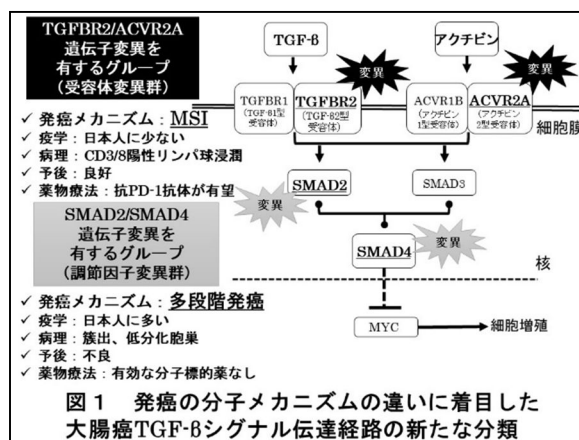
## 3. 研究の方法

がん遺伝子パネル検査を実施した日本人大腸癌 201 症例を対象として、TGF-β シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌を *TGFBR2* または *ACVR2A* に遺伝子変異をもつ群 (受容体変異群) と、*SMAD2* または *SMAD4* に遺伝子変異をもつ群 (調節因子変異群) とに分類し、それぞれの群における病理像の特徴・遺伝子変異と蛋白質発現との関係・遺伝子変異が予後に与える影響を解析した。さらに、大腸癌において最も頻度の高い WNT シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌について解析を進め、TGF-β シグナル伝達経路やその他のシグナル伝達経路の異常との関係を解析した。

## 4. 研究成果

### (1) TGF-β シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌

受容体変異群は、ミスマッチ修復遺伝子や *POLE* 遺伝子変異を原因として遺伝子変異量が増加する分子サブタイプである Tumor mutational burden-high (TMB-H) と関連していることが明らかとなった。TMB-H 大腸癌は、免疫チェックポイント阻害剤の効果が期待される重要な分子サブグループであることが知られており、2020 年 6 月に米国食品医薬品局は、TMB-H 固形癌に対して免疫チェックポイント阻害剤であるペムプロリズマブを承認した。我々は、受容体変異群の中でも、TMB-H 大腸癌に着目してさらに研究を進めた。TMB-H 大腸癌の病理像の特徴を解析すると、TMB-H 大腸癌では、腫瘍内部および腫瘍辺縁部における Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) が有意に多く認められることが明らかとなった。Receiver operating characteristic (ROC) 解析から、TILs を指標として TMB-H 大腸癌を予測するときの Area under the curve (AUC) は 0.910 であった。このことから、TMB-H 大腸癌の遺伝子学的特徴が形態学的特徴に反映されていると考えられた。次に我々は、TMB-H 大腸癌の病理スライドを深層学習することによって、TMB-H 大腸癌を予測する人工知能を開発した。ROC 解析から、この人工知能を用いた TMB-H 大腸癌の予測精度にお



ける AUC は 0.934 であった (*J Gastroenterol.* 2021 Jun;56(6):547-559. )。この人工知能では、がん遺伝子パネル検査を行わなくとも、病理スライドから安価に TMB-H 大腸癌を予測することが可能になると考えられた。これらの成果は、固形癌の遺伝子変異解析におけるコストを削減する上で重要であると考ええる。

調節因子変異群の中でも、臨床上重要な 5FU 系抗癌剤への耐性に関与する *SMAD4* 遺伝子変異に着目して研究を進めた。その結果、病理組織学的には、*SMAD4* 遺伝子変異は *SMAD4* 蛋白質発現の失活と関連しており、大腸癌発育先進部の組織型である低分化胞巣と有意に関連していた。さらに、Stage I–III 症例において *SMAD4* 遺伝子変異症例は有意に予後不良であることが明らかとなった (*Histopathology.* 2019 May;74(6):873-882. )。

## (2) WNT シグナル伝達経路に異常を有する大腸癌

右側大腸癌は、左側大腸癌と比較して有意に予後不良であり、右側大腸癌の発生には鋸歯状病変を前癌病変とする鋸歯状経路の関連が示唆されている。近年、WNT シグナル伝達経路にある *RNF43* 遺伝子変異が鋸歯状病変の発生に関与していることが注目されていることから、*RNF43* 遺伝子に着目して研究を進めた。その結果、*RNF43* 遺伝子変異は、MAPK シグナル伝達経路における *BRAF* V600E 遺伝子変異と同時に変異をきたすことが多いことが明らかとなった。このことから、右側大腸癌の発生には、WNT シグナル伝達経路の *RNF43* と MAPK シグナル伝達経路の *BRAF* V600E の同時変異が関与している可能性が示唆された (*Oncol Rep.* 2020 Jun;43(6):1853-1862. )。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Matsumoto A, Shimada Y, Nakano M, Oyanagi H, Tajima Y, Nakano M, Kameyama H, Hirose Y, Ichikawa H, Nagahashi M, Nogami H, Maruyama S, Takii Y, Ling Y, Okuda S, Wakai T.	4. 巻 43
2. 論文標題 RNF43 mutation is associated with aggressive tumor biology along with BRAF V600E mutation in right-sided colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 1853-1862
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/or.2020.7561.	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 Oyanagi H, Shimada Y, Nagahashi M, Ichikawa H, Tajima Y, Abe K, Nakano M, Kameyama H, Takii Y, Kawasaki T, Homma KI, Ling Y, Okuda S, Takabe K, Wakai T.	4. 巻 74
2. 論文標題 SMAD4 alteration associates with invasive-front pathological markers and poor prognosis in colorectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 873-882
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/his.13805.	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 Shimada Y, Okuda S, Watanabe Y, Tajima Y, Nagahashi M, Ichikawa H, Nakano M, Sakata J, Takii Y, Kawasaki T, Homma KI, Kamori T, Oki E, Ling Y, Takeuchi S, Wakai T.	4. 巻 56
2. 論文標題 Histopathological characteristics and artificial intelligence for predicting tumor mutational burden-high colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 547-559
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-021-01789-w.	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0件

〔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
研究分担者	若井 俊文  (Wakai Toshifumi)  (50372470)	新潟大学・医歯学系・教授    (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	亀山 仁史 (Kameyama Hitoshi)  (40626420)	新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員  (13101)	
研究分担者	永橋 昌幸 (Nagahashi Masayuki)  (30743918)	新潟大学・医歯学総合病院・研究准教授  (13101)	
研究分担者	市川 寛 (Ichikawa Hiroshi)  (50721875)	新潟大学・医歯学系・助教  (13101)	
研究分担者	田島 陽介 (Tajima Yosuke)  (30757505)	藤田医科大学・医学部・講師  (33916)	
研究分担者	小林 隆 (Kobayashi Takashi)  (40464010)	新潟大学・医歯学系・准教授  (13101)	
研究分担者	奥田 修二郎 (Okuda Shujiro)  (00512310)	新潟大学・医歯学系・准教授  (13101)	

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