

平成 30 年 5 月 1 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10275

研究課題名(和文) 肺腺がん術後再発と化学療法応答性に関わる因子の解明

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of lung adenocarcinoma focus on the recurrence and response to chemotherapy

研究代表者

齋藤 元伸 (Saito, Motonobu)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90611749

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肺腺癌の多層的解析を行い、融合遺伝子陽性癌はがん関連遺伝子変異や他の遺伝子変異の頻度が低く、融合遺伝子自体で癌が発生していることが示された。また、ドライバー遺伝子変異陰性肺腺癌はがん関連遺伝子変異などの極端な変異の蓄積が認められた。次に、各ドライバー遺伝子の割合を日本と欧米で比較した。日本においてはEGFR変異陽性癌が最多だが、欧米ではKRAS変異陽性癌が最多で、次いでEGFR変異陽性癌が多かった。KRAS変異に対する特異的な阻害剤は開発途中であるため、欧米においては個別化医療の適応にならない例が多いことが示唆された。以上より、ドライバー遺伝子の同定が治療に有益な結果をもたらすことが示された。

研究成果の概要(英文)：We performed a comprehensive genetic analysis for lung adenocarcinomas (LADC) and found that the driver fusion cases showed a distinct profile with smaller numbers of nonsynonymous mutations in cancer-related genes or truncating mutations in SWI/SNF chromatin remodeling. On the other hand, pan-negative LADCs appear to develop from a large number of gene mutations, including mutations in TP53 and other cancer-related genes. Next, we have compared the frequency of each driver genes between Japan and US cohort. EGFR mutations are more prevalent in Japanese patients, whereas KRAS and BRAF mutations are more prevalent in the US. To date, the molecularly targeted drugs for KRAS mutations have not developed yet, targeted therapy have not adapted the patients with LADC in the US. In conclusion, the information of driver genes will aid in the selection of appropriate targeted therapy.

研究分野：ゲノム生物学

キーワード：肺腺癌 ドライバー遺伝子 遺伝子融合

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦における肺癌はがん死因第一位を占める難治がんであり、罹患数は男女ともに年々増加傾向にある。治療の第一選択は外科的切除であるが、根治的切除が行われたステージ1の症例であっても、術後再発などにより予後は他のがん種に比べて不良である[1]。近年急速に進展している次世代シーケンサーを用いた解析では、原発巣の遺伝子変異、マイクロRNA発現、また mRNA 発現などを多数の肺腺癌症例を用いて報告している[2]ものの、予後を左右する再発・転移に関する検討は少なく、その機序はいまだ明らかではない。

(2) 肺腺癌においては、EGFR 遺伝子変異陽性癌に対しての抗 EGFR 抗体薬の特異的な有効性が確認されて以来[3]、ドライバー変異を標的とした分子標的薬が数多く開発された。実臨床において、遺伝子異常に基づいた治療の個別化が部分的に実現し、既に大きな治療効果をあげている。現在わが国では、EGFR 変異陽性癌に対する EGF タンパク質のチロシンキナーゼ阻害剤である gefitinib、erlotinib、afatinib、ALK 遺伝子融合陽性癌と ROS1 遺伝子融合陽性癌に対するチロシンキナーゼ阻害剤の crizotinib が承認されている。しかしながら、EGFR 遺伝子変異、ALK 遺伝子融合や ROS1 遺伝子融合をもつ症例は肺腺癌の約半数にとどまり、残りの多数例は化学療法の適応となる。標準レジメンは、プラチナ製剤 (cisplatin か carboplatin) を基本とする 2 剤併用のプラチナダブレット治療であるが、その奏効率は 30 - 40% と低いのが現状である[4, 5]。治療効果の高い個別化医療をさらに推進するために、プラチナダブレット治療の奏効率が高い症例の選択や奏効率をあげる因子の探求が必要である。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、肺腺癌を対象とし、ゲノム異常に基づいた肺腺癌の理解、肺腺癌の再発・転移機序の解明と、その再発に対するプラチナダブレット治療の応答性に関わる因子の解明を目指す。研究にあたっては、原発巣と転移巣の手術切除検体を用いて多層的解析 (遺伝子変異、miRNA 発現、mRNA 発現、タンパク質発現、メチル化) をおこない、得られたデータの検証を独立した群や細胞実験を用いておこなう。

3. 研究の方法

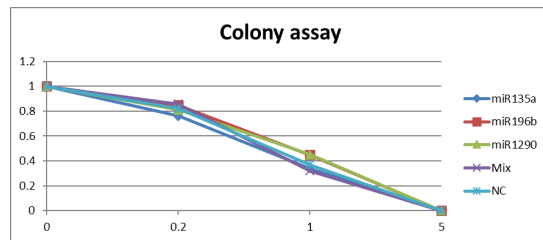
(1) 国立がん研究センターにて進められている多層的解析研究から、プラチナダブレット治療応答性に関連したデータを引き出して解析し、バイオマーカーや関連する因子を同定する。治療応答性などのバイオマーカーについては細胞実験を用いて検証実験をおこなう。治療抵抗性を解除しうる因子などを同定し、細胞を用いた機能解析実験にて検証

して生物学意義を明らかにする。これらの生物学的側面に重点をおいた研究とともに、ドライバー遺伝子変異やエクソーム解析結果に基づいての解析をおこない、さらに症例群の臨床病理学的因子との関連など、臨床面からの解析も並行しておこなう。

4. 研究成果

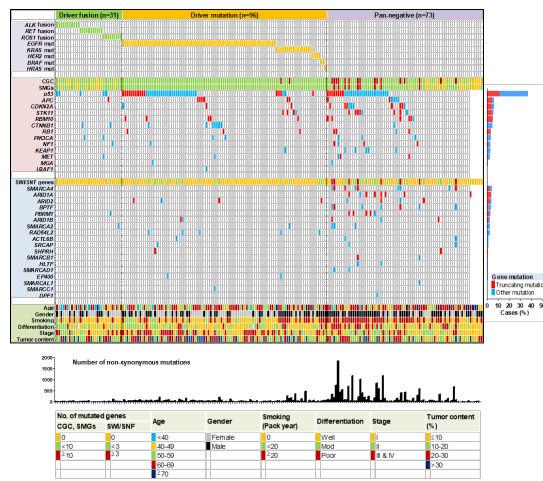
(1) プラチナダブレット治療応答性に関連するマイクロRNA は治療応答群と抵抗群での比較から同定し[6]、細胞実験にて抗癌剤耐性に直接関与するかを試みた。治療応答性に関与する三つの miRNA (miR-1290, miR-196b, and miR-135a*) を肺腺癌細胞株 A549 に導入し、濃度の異なる Cisplatin でのコロニー形成能を測定してその感受性を検討した。結果だが、各 miRNA を導入した細胞株のコロニー数をコントロール (ランダムな配列の miRNA) と比べたが、明らかな差異は認められなかった (図 1)。以上のことから、これらの miRNA は治療効果予測のバイオマーカーとしては有用だが、治療効果を上げる作用を示唆する結果は (細胞レベルでの検討ではあるが) 得られなかった。

図 1



(2) 次にドライバー遺伝子ごとに肺腺癌症例を群分けして、パッセンジャー遺伝子変異を解析した。融合遺伝子陽性肺腺癌はがん関連遺伝子変異や他の遺伝子変異の頻度が低く、融合遺伝子自体で癌が発生していることが示された[7](図 2)。

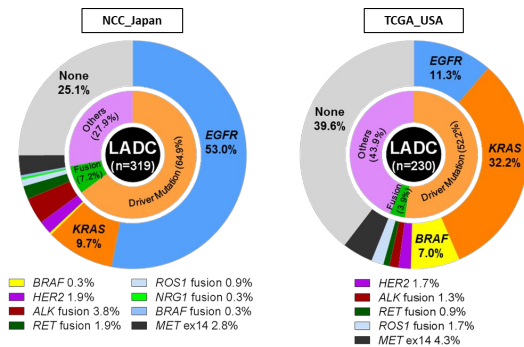
図 2



また、ドライバー遺伝子変異が認められない肺腺癌はがん関連遺伝子変異やその他の遺伝子変異の極端な蓄積が認められた。この群は男性かつ喫煙者の割合が多く、喫煙により変異が蓄積するという特徴が明らかとなり、ドライバー遺伝子はないものの変異の蓄積により癌化がおこることが示唆された。

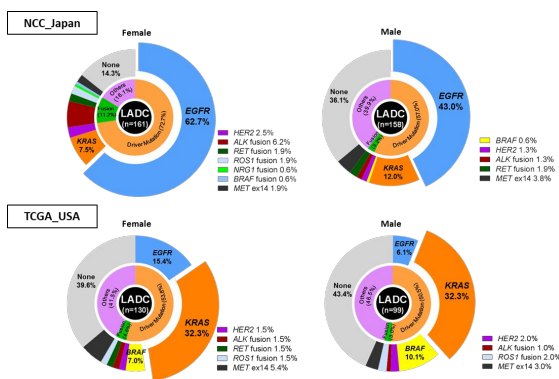
(3) ドライバー遺伝子の割合を本邦と欧米で比較したところ、本邦では EGFR 変異が多く、次いで、KRAS 変異や HER2 変異、ALK 融合が認められた[8](図3)。一方、欧米においては KRAS 変異が最も多く認められ、ついで、EGFR 変異や BRAF 変異、HER2 変異が認められた。

図 3



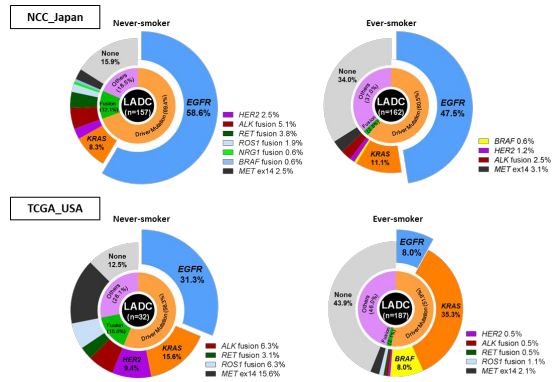
これらをさらに、性別で分類すると、男性では日欧共に KRAS 変異が多い一方で、女性では日欧共に EGFR 変異が多かった(図4)。

図 4



喫煙の有無で分類すると、非喫煙者は日欧共に EGFR 変異と融合遺伝子陽性肺癌の割合が高いことがわかった。融合遺伝子は女性非喫煙者に多いことは、融合遺伝子自体の癌発生能力の高さを物語っていると言える(図5)。マウスモデルを用いた実験においても、融合自体を標的とする治療の有効性が示されており[9]、融合を標的とする治療は理にかなっていると言える。

図 5



< 引用文献 >

- Herbst, R.S., J.V. Heymach, and S.M. Lippman, Lung cancer. N Engl J Med, 2008. 359(13): p. 1367-80.
- Cancer Genome Atlas Research, N., Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. Nature, 2014. 511(7511): p. 543-50.
- Paez, J.G., et al., EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. Science, 2004. 304(5676): p. 1497-500.
- Scagliotti, G.V., et al., Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol, 2002. 20(21): p. 4285-91.
- Schiller, J.H., et al., Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. N Engl J Med, 2002. 346(2): p. 92-8.
- Saito, M., et al., A three-microRNA signature predicts responses to platinum-based doublet chemotherapy in patients with lung adenocarcinoma. Clin Cancer Res, 2014. 20(18): p. 4784-93.
- Saito, M., et al., Development of lung adenocarcinomas with exclusive dependence on oncogene fusions. Cancer Res, 2015. 75(11): p. 2264-71.
- Saito, M., et al., Gene aberrations for precision medicine against lung adenocarcinoma. Cancer Sci, 2016. 107(6): p. 713-20.
- Saito, M., et al., A mouse model of KIF5B-RET fusion-dependent lung tumorigenesis. Carcinogenesis, 2014. 35(11): p. 2452-6.

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 14 件)

Saito M, Kohno T, et al. (5人中1番目) Treatment of lung adenocarcinoma by molecular-targeted therapy and immunotherapy. Surg Today;48:1-8, 2018.

Saito M, Goto A et al. (9人中1番目) Identification of candidate responders for anti-PD-L1/ PD-1 immunotherapy, Rova-T therapy, or EZH2 inhibitory therapy in small cell lung cancer. Mol Clin Oncol. 8:310-4, 2018.

George J*, Saito M*, Kohno T, et al. (18人中2番目 *co-first) Genomic amplification of CD274 (PD-L1) in small cell lung cancer. Clin Cancer Res. 23(5):1220-1226, 2017. 査読あり

Goto A, Saito M, Maeda D, et al. (14人中7番目) The low expression of miR-451 predicts a worse prognosis in non-small cell lung cancer cases. PLoS One. 12(7):e0181270, 2017. 査読あり

Shiraishi K, Saito M, Kohno T, et al. (46人中37番目) Association of variations in HLA-class II and other loci with susceptibility to EGFR-mutated lung adenocarcinoma. Nature Commun. 7:12451, 2016. 査読あり

Saito M, Kohno T, et al. (6人中1番目) Gene aberrations for precision medicine against lung adenocarcinoma. Cancer Sci. 107(6):713-20, 2016. 査読あり

Saito M, Kohno T, et al. (3人中1番目) Advances in targeted therapy and immunotherapy for treatment of lung cancer. Ann. Cancer Res. Ther. 24(1): 1-6, 2016. 査読あり

Sunami K, Saito M, Kohno T, et al. (12人中8番目) Multiplex Diagnosis of Oncogenic Fusion and MET Exon Skipping by Molecular Counting Using Formalin-Fixed Paraffin Embedded Lung Adenocarcinoma Tissues. J Thorac Oncol. 11(2):203-12, 2016. 査読あり

Saito M, Kohno T et al. (13人中1番目) Development of lung adenocarcinomas with exclusive dependence on oncogene fusions. Cancer Res. 75(11):2264-71, 2015. 査読あり

Kohno T, Saito M. (2人中2番目) Comparisons between mouse and human studies will help the prevention,

diagnosis, and treatment of the deadliest type of lung cancer. J Thorac Oncol. 10(4):551-2, 2015. 査読あり

齋藤元伸、河野隆志。遺伝子異常に基づく肺腺がんの precision medicine. 血液内科, 74(1):1-7, 2017. 査読なし

齋藤元伸、河野隆志。肺癌における分子異常と創薬. Med Sci Digest. 42(9):8-11, 2016. 査読なし

齋藤元伸、河野隆志。肺癌におけるドライバー遺伝子の最新知見. Annual Review2016 呼吸器. 50-56, 2016. 査読なし

齋藤元伸、河野隆志。次世代シーケンサー解析による新しい肺がん治療標的分子の発見. 呼吸器疾患診療の最先端. 16-19, 2015. 査読なし

〔学会発表〕(計 7 件)

Saito M, Kono K, Kohno T. Gene Aberrations for Precision Medicine against Lung Adenocarcinoma. AACR Annual Meeting 2017. Washington DC, USA, 2017.

Saito M, Kono K, Kohno T. Genomic focal amplification of PD-1 ligands in small cell lung cancer. The 76th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, Japan, 2017.

Saito M, Takenoshita S, Yokota J, Kohno T. Lung adenocarcinoma development with exclusive dependence on oncogene fusions. 21st Congress of Asian Pacific Society of Respiriology. Bangkok, Thai, 2016.

Saito M, Kono K, Kohno T. Lung adenocarcinoma development with exclusive dependence on oncogene fusions. The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Yokohama, Japan, 2016.

齋藤元伸、白石航也、横田淳、Curtis C. Harris、竹之下誠一、河野隆志。マイクロRNAを用いた肺腺がん術後再発に対するプラチナダブレット治療の効果予測。第24回癌病態治療研究会、2015年6月25日、日光。

齋藤元伸、白石航也、岩川麗香、竹之下誠一、横田淳、河野隆志。Genomic focal amplification of the PD-L1 gene in small cell lung cancer. 第74回日本癌学会、2015年10月8日、名古屋。

齋藤元伸、白石航也、横田淳、竹之下誠一、河野隆志。ALK/RET/ROS1 遺伝子融合陽性肺腺癌の遺伝子変異プロファイルとそのマウス

モデルの検討 第 53 回癌治療学会、2015 年
10 月 29 日、京都。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

齋藤 元伸 (SAITO Motonobu)、

福島県立医科大学

医学部 講師

国立がん研究センター 研究所

ゲノム生物学研究分野 研究員

研究者番号：90611749