

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15301

研究課題名(和文) Colitic cancerの変異プロファイルにより慢性炎症癌化機構の解明

研究課題名(英文) Genomic landscape of colitis-associated cancer indicates the impact of chronic inflammation

研究代表者

中川 英刀 (Nakagawa, Hidewaki)

国立研究開発法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：50361621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、22例のIBDからの大腸癌(CAC)の新鮮凍結標本を収集し、エクソームとRNAシーケンスをおこなった。そして、見つかった43個の変異遺伝子に着目して、90例のFFPEのCACについて標的変異解析を行った。その結果、66%のCACにTP53の変異が見つかったが、APCは16%の症例にしか変異がなく、高分化型や晩発性IBDと相関があった。一方で、別のWntシグナル分子の変異は11%のCACに確認され、IBDの罹患期間と有意に相関していた。CACは、通常型の大腸がんとは大きく異なる変異パターンを示し、Wntシグナル分子の変異によって層別化することができる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We obtained fresh-frozen tumor tissues from 22 colitis-associated cancer (CAC) patients and performed exome sequencing and RNA-Seq. We then selected 43 recurrently mutated genes and performed targeted sequencing on 90 archive specimens from CAC patients. The most commonly mutated gene in CAC was TP53, whose mutation was found in 66%. APC mutations were found only in 16%, which were associated with differentiated adenocarcinoma, left-sided colitis, and late onset of IBD. On the other hand, mutations of another Wnt-related gene occurred in 11% of CACs and showed significant association with IBD duration, indicating its link to chronic inflammation. CACs showed distinct genetic features from conventional CRCs, while some showed similar features. Mutated genes specific to CACs, especially ones in Wnt signaling, have an implication for stratification and treatment of CAC.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：がんゲノム 炎症性腸疾患 大腸がん

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症は、癌の発生や進行に対して誘発的・促進的要因として強く関与している。慢性肝炎・肝硬変からの肝癌の発生や、ピロリ菌感染による萎縮性胃炎からの胃癌発生などが最も一般的な例である。潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (IBD) は大腸や小腸粘膜を侵す原因不明の慢性炎症性疾患であり、何らかの自己免疫機序を背景とした腸粘膜や腸管細菌叢に対する異常な炎症反応と考えられている。潰瘍性大腸炎は、我が国においては毎年増加の一途を辿っており、発症年齢のピークは20歳台と若年者に多く発症し、以後長い慢性炎症の罹患期間の間に再燃と寛解を繰り返すのが特徴である。腸粘膜の慢性炎症状態にある潰瘍性大腸炎やクローン病の長期経過例では慢性炎症を母地とした大腸癌 (colitic cancer) の発生を合併する例が多く存在する。発癌には罹患期間と罹患範囲 (慢性炎症の期間と範囲) が強く関係し、累積癌化率は10年で0~5%、20年で8~23%、30年で30~40%と推定されており、高い頻度で大腸癌が発生してくる長期経過例に対しては癌のサーベイランスが重要な臨床的課題となっている。この colitic cancer は特異な形態や病理像を示すことが多く、進行が速く予後が悪いことが知られており、通常の大腸癌と異なる発癌および癌進行の分子メカニズムが働いていると考えられている。通常の大腸癌の発癌は APC 遺伝子の変異から始まる多段階発癌機構を経て発生・進行することが確立されているが、IBD から発生する colitic cancer においては多段階発癌の中間期をスキップする、いわゆる de novo 型の発癌機構の概念が提唱されている。また、慢性炎症を母体として腸粘膜に多発することも多く、field effect として炎症の持続によって醸し出される特異な発癌機構が広範囲の炎症粘膜に影響を及ぼしているものと考えられる。しかしながら colitic cancer に関わる具体的な変異遺伝子、そしてその診断バイオマーカーは依然不明であり、通常の大腸癌との違いや、他の慢性炎症を背景に発生する癌腫 (肝癌癌など) との類似点について検討する必要がある。

2. 研究の目的

本研究は、非常に稀な colitic cancer (colitis-associated cancer: CAC) のサンプル収集とそれらのゲノムシーケンス解析を行い、分子・ゲノムレベルでの炎症性腸疾患および慢性炎症からの発癌機構の解明を目的とする。慢性炎症を背景とする肝癌癌などとの比較により、慢性炎症に関わる変異パターンや炎症・免疫関連遺伝子の変異を同定し、慢性炎症からの癌化への早期診断マーカーの探索も試みる。

3. 研究の方法

兵庫医大病院にて IBD から colitic cancer の新鮮凍結標本 22 例を収集し (潰瘍性大腸炎 UC: 22 例)、腫瘍と正常組織から DNA および RNA を抽出して、NGS を用いて全エクソームシーケンス解析および RNA シークエンスを行った。全エクソームシーケンス解析のデータから、体細胞変異を検出し、colitic cancer で高頻度に体細胞変異を起こしている遺伝子を探した。まず、通常の大腸癌で高頻度に変異が確認されている APC, TP53, KRAS や炎症・免疫関連分子の変異に注目して、変異集積度を検証する。体細胞変異の塩基置換パターンに関して、TCGA/ICGC で公開されている通常の大腸癌および理研/ICGC にて解析した慢性肝炎からの肝癌癌の変異塩基置換パターンとの比較検討を行い、慢性炎症特異的な変異パターンの抽出を試みる。さらに兵庫医大病院病理部に保管されている FFPE の colitic cancer 標本より、病理学的解析をおこなった後に、DNA を抽出し、エクソーム解析で見つかった新規変異遺伝子の変異の有無の追証を行う。

4. 研究成果

22 例の IBD から大腸癌 (CAC) の新鮮凍結標本を収集し、エクソームと RNA シークエンスをおこなった。そして、エクソーム解析で見つかった遺伝子および、既報の論文で報告された CAC 特異的な変異遺伝子を合わせた 43 個の変異遺伝子に着目し、標的キャプチャプローブの合成を行い、90 例の FFPE の CAC について (潰瘍性大腸炎 UC: 58 例、クローン病 CD: 38 例) 標的変異解析を行った。その結果、66% の CAC に TP53 の変異が見つかったが、APC は 16% の症例にしか変異がなく、高分化型腺癌や限局性、又は晩発性 IBD と相関があった。一方で、別の Wnt シグナル分子の変異は 11% の CAC に確認され、IBD の罹患期間と有意に相関していた。また、新規の CAC 特異的な変異遺伝子を 4 つ同定し、細胞株での実験により、その 1 つはがん細胞の浸潤能との関連が示唆された。CAC は、通常型の大腸癌と大きく異なる変異パターンを示しており、変異解析および RNA 発現解析の結果より、Wnt シグナル分子の変異によってその発がん機構や臨床像を層別化することができる可能性がある。

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 6 件)

1. Fujita M, Matsubara N, Nakagawa H, et al. Genomic landscape of colitis-associated cancer indicates the impact of chronic inflammation and its

- stratification by mutations in Wnt signaling pathway. 投稿中
2. Van Renne M, Roca Suarez A, Duong F, Gondeau C, Calabrese D, Fontaine N, Ababsa A, Bandiera S, Croonenborghs T, Pochet N, De Blasi V, Pessauz P, Piardi T, Sommacale D, Ono A, Chayama K, Fujita M, Nakagawa H, Hoshida Y, Zeisel M, Heim M, Baumert T, and Lupberger J. miR-135a-5p-mediated downregulation of protein-tyrosine phosphatase delta is a candidate driver of HCV-associated hepatocarcinogenesis. **Gut** in press (2017) 査読有
 3. Furuta M, Ueno M, Fujimoto A, Hayami S, Yasukawa S, Kojima F, Arihiro K, Kawakami Y, Wardell CP, Shiraishi Y, Tanaka H, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Tokunaga N, Boreoevich KA, Abe T, Aikata H, Ohdan H, Gotoh K, Kubo M, Tsunoda T, Miyano S, Chayama K, Yamaue H, and Nakagawa H. Whole genome sequencing discriminates hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis from multi-centric tumors **J Hepatol** 66: 363-373 (2017) 査読有
 4. Alexandrov LB, Ju Y, Haase K, Van Loo P, Martincorena I, Nik-Zainal S, Totoki Y, Fujimoto A, Nakagawa H, Shibata T, Campbell PJ, Vineis P, Phillips DH, and Stratton MR. Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. **Science** 354:618-622 (2016) 査読有
 5. Fujimoto A, Okada Y, Boreoevich KA, Tsunoda T, Taniguchi H, and Nakagawa H. Systematic analysis of mutation distribution in three dimensional protein structure identifies driver genes. **Sci Rep** 6:26483 (2016) 査読有
 6. Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, Tsunoda T, Kato M, Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata H, Arihiro K, Boreoevich KA, Abe T, Nakano N, Maejima K, Sasaki-Oku A, Ohsawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Ohashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusaka T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, Shibata T, and Nakagawa H. Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in

- liver cancer. **Nat Genet** 48: 500-509 (2016) 査読有
7. Tyler S, Alioto TS, Buchhalter I, Derdak S, Hutter B, Eldridge MD, Hovig E, Heisler LE, Beck TA, Simpson JT, Tonon J, Sertier S, Patch AS, Jäger N, Ginsbach P, Drews R, Paramasivam N, Kabbe R, Chotewutmontri S, Diessl N, Previti C, Schmidt S, Brors B, Feuerbach L, Heinold, Gröbner S, Korshunov A, Tarpey PS, Butler AP, Hinton J, Jones D, Menzies A, Raine K, Shepherd R, Stebbings L, Teague JW, Ribeca P, Giner FC, Beltran S, Raineri E, Dabad M, Heath SC, Gut M, Denroche RE, Harding NJ, Yamaguchi TN, Fujimoto A, Nakagawa H, Quesada V, Valdés-Mas R, Nakken S, Vodák D, Bower L, Lynch A, Anderson CL, Waddell N, Pearson JV, Grimmond SM, Peto M, Spellman P, He M, Kandoth C, Lee S, Zhang J, Létourneau L, Ma S, Seth S, Torrents D, Xi L, Wheeler DA, López-Otín C, Campo E, Campbell PJ, Boutros PC, Puente XS, Gerhard DS, Pfister SM, McPherson JD, Hudson TJ, Schlesner M, Lichter P, Eils P, Jones DTW, and Gut IG. A comprehensive assessment of somatic mutation detection in cancer using whole genome sequencing. **Nat Commun** 6: 10001 (2015) 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Nakagawa H and Aburatani H. “Molecular analysis for liver cancer progression: step-wise progression and recurrent diagnosis” The 12th Scientific Workshop of ICGC (Boston, USA) September/20/2016
2. Nakagawa H. “Immunogenomic Analysis in PCAWG (PanCancer Analysis for Whole Genomes) of ICGC/TCGA” The 25th Korean Genome Organization Annual Conference (Seoul, Korea) September/05/2016
3. Nakagawa H. “Whole genome sequencing of liver cancer and forwarding to precision medicine” The 102nd Annual Meeting of Japanese Society of Gastroenterology (Tokyo, Japan) April/22/2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川英刀 (NAKAGAWA Hidewaki)
国立研究開発法人理化学研究所・
統合生命医科学研究センター・
チームリーダー
研究者番号：50361621

(2) 連携研究者

松原長秀 (MATSUBARA Nakahide)
兵庫医科大学・医学部・客員教授
研究者番号：70314672

(3) 研究協力者

藤田征志 (FUJITA Masashi)
国立研究開発法人理化学研究所・
統合生命医科学研究センター・
研究員
研究者番号：80564749

(4) 研究協力者

池内浩基 (IKEUCHI Hiroki)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：780319863