

平成30年6月18日現在

機関番号：82713

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19099

研究課題名(和文)日本人における前立腺癌の原因遺伝子に基づいた経路探索

研究課題名(英文) Analysis of Japanese Prostate Cancer: Mutation Analysis and Prediction of Pathway

研究代表者

笠島 理加 (Rika, Kasajima)

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター(臨床研究所)・その他部局等・特別研究員

研究者番号：20630875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌の発がん機構には、欧米人(白人)と日本人との間で「地域差/民族差」があることが解っている。本研究では、既に報告されている前立腺癌に関連する全エクソン・全ゲノムシーケンスなどの遺伝子解析研究から遺伝子の変異頻度が高いと予測される71種類の遺伝子を選択し、KCC71パネルを作製した。日本人前立腺癌21症例において、がん組織からゲノムDNAを抽出しKCC71パネルを使いIonPGMによる遺伝子変異の解析を行った。また、見出した変異がどのような分子情報伝達経路に関与しているのか、さらに診断・治療の標的となる経路を東大医科研のTCNGを利用して予測したので報告する。

研究成果の概要(英文)： There exist many integrated analyses of whole-genome, exome, and transcriptome data of Caucasian prostate cancer. However, a few reports of analysis on Japanese cases have been available in literature. It has been known that there are “regional and/or ethnic differences” between Asian and Caucasian populations in the tumorigenesis of prostate cancer.

To detect the genetic alterations appeared in prostate cancer in Japanese population, we created new panels designated as KCC71. In KCC71, 71 genes were selected, based on the gene mutations reported in the analyses of prostate cancers. In this study, frozen tumor tissues from 21 Japanese prostate cancer patients were subjected to the analyses with the panels using Ion PGM to identify gene alterations.

We found that some genes had highly frequent genetic mutations. We also performed pathway analyses to predict the molecular pathways related to prostate cancer tumorigenesis in Japanese population with TNCG data base.

研究分野：分子細胞学, バイオインフォマティクス

キーワード：次世代シーケンサー Ion PGM 遺伝子変異解析 前立腺癌 ネットワーク解析

### 1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は欧米人で罹患率が高く、アジア人に低いとされてきたが、本邦においても急増傾向にあり、2020年には罹患患者数が約8万人以上になると推定されている。がん細胞における体細胞遺伝子変異の出現頻度やスペクトラムに民族差や地域差があることは様々ながんで観察されており、治療効果にも深く関わっている可能性があるため注目されている。2005年 Tomlins らは erythroblastosis virus E26 transformation specific (ETS)ファミリーに属する癌遺伝子である *ERG* (ETS related gene) と *ETV1* (ETS variant gene 1) が染色体改変により、アンドロゲンで発現が誘導される *TMPRSS2* 遺伝子の転写調節領域の下流に転座して生ずる「アンドロゲン誘導性融合がん遺伝子」の形成が50~70%以上の前立腺癌症例で認められることを報告した (Tomlins ら, Science 10: 644-8)。神奈川県立がんセンター臨床研究所・がん分子病態学部では、前立腺摘出手術を受けた日本人前立腺癌例を RT-PCR で解析し、28%の症例で *TMPRSS2:ERG* の融合 mRNA を認め欧米よりも出現頻度が低い可能性を指摘した (Miyagi ら, Mod Pathol 2010, 23:1492-1498)。Magi-Galluzzi らは FISH 法の解析で *TMPRSS2:ERG* 出現頻度が白人、アフリカ系米国人と比べて 16%と有意に低いことを確認している (Magi ら, Prostate 2011, 71: 489-497)。前立腺がんの約 2/3 が *TMPRSS2:ERG* 融合遺伝子群と *SPOP* 遺伝子変異群に分類される白人前立腺がんに対して、逆に日本人前立腺がんの遺伝子異常の 2/3 が black box になっている (図1)。

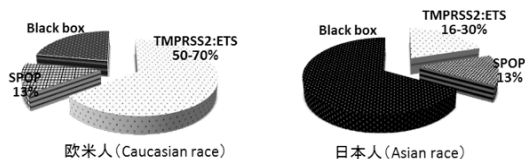


図1. 欧米人 (Caucasian race) の前立腺癌の多くが主たる遺伝子変異が解っているのに対して、日本人前立腺癌では逆に、多くが black box にある。

このように、前立腺癌でも同様に、欧米の研究結果がそのまま日本における前立腺癌に適用できないことは明白であり、この違いを遺伝子変異の観点から探る必要がある。

先行研究として前立腺癌 20 症例において体細胞変異が比較的多く報告されている 71 遺伝子を候補として、半導体型次世代シーケンサー Ion PGM を用いた日本人前立腺癌における遺伝子変異解析を行った。

### 2. 研究の目的

解析結果を踏まえて病理形態学的、また、分子生物学的視点からこれを裏付ける。分子ネットワークを介して発がんに関与しているかを次世代シーケンサーデータから予測すると共に特に日本人における前立腺癌の発生、進展に特徴的な機構に着目して、前立腺癌患者の層別化/個別化と、対応する診断・治療に有用な標的の探索・確立を更に進める (図2)。

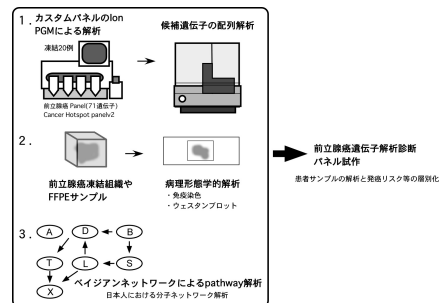


図2. 研究ワークフロー

日本人前立腺癌における Ion PGM による遺伝子変異解析から得られた候補遺伝子をもとに病理学的解析と pathway 解析を行う。臨床データも加えた前立腺癌の発症および悪性化の解析を進める。また、前立腺癌の診断パネルを作成する。

### 3. 研究の方法

日本人における前立腺癌の遺伝子変異解析結果から、欧米人 (白人) とは異なる日本人の前立腺癌に特徴的な発症/進展に関わる機構を解析する。先行研究で見出した遺伝子変異解析、数理的な手法をも用いた pathway 解析などの結果に基づいて、病理組

織学的な技術を主体に、分子生物学的な手法も交えて、前立腺全摘標本を中心に検証し、より確かな情報として確立する。更に、日本人に見合う前立腺癌診断パネル（前立腺癌版の **Oncotype DX** 遺伝子検査）の作製も試みる。

- ① 先行研究で行なった次世代シーケンサーを用いた凍結 20 症例分の日本人前立腺癌の遺伝子変異解析から得られた候補遺伝子の確認
- ② 日本人症例と他の民族間との比較解析
- ③ **The Cancer Network Galaxy** を利用した前立腺癌のがん化ネットワークの解析

#### 4. 研究成果

##### ① 20 症例分の日本人前立腺癌の遺伝子変異解析から得られた候補遺伝子の確認

KCC71 パネルでの解析により、33 種類の遺伝子上に変異が認められた。本研究で見出されたアクショナブルな変異をもつ遺伝子は **BRCA2**, **BRAF**, **SPOP** and **CDH1** であった。特に **BRCA2**, **SYNE1**, **ZFH3**, **LRPB1**, **EP300**, **SOX9** 上に複数の症例で変異が認められた。変異が認められた遺伝子は **PI3K**, **RAS**, **AR signaling**, **cell cycle arrest**, **DNA repair**, **transcription** に関する経路上に存在するため、遺伝子に変異が入ることにより経路が破綻し、がん化に繋がることが考えられる。

##### ② 日本人症例と他の民族間との比較解析

日本人前立腺癌の症例の方が欧米人に比べて前立腺癌に関与しているとされる遺伝子変異の蓄積頻度が多かった。

##### ③ **The Cancer Network Galaxy** を利用した前立腺癌のがん化ネットワークの解析

**TCNG** データベースに登録されている前立腺癌のデータから **Seed gene** を中心として、親・子・孫関係にある遺伝子間制御関係を取り出し、さらに7つのネットワークから共通する遺伝子関係を抽出した。さらに、それらの共通する遺伝子関係から親・子・孫関係にある遺伝子間制御関係を抽出し、コアネットワークを予測した (図3)。

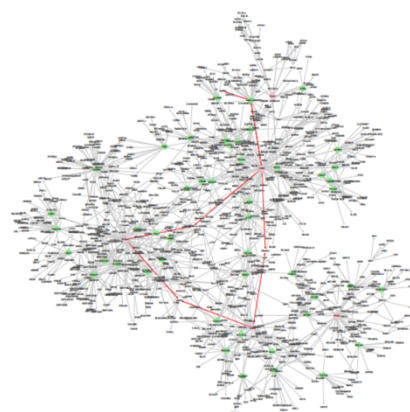


図3. 前立腺癌のコアネットワーク

パネル解析で得られた変異を **Seed gene** とし、**TCNG** データベースから予測した。

**REVIGO** を利用した **Gene Ontology** 解析でコアネットワークは“positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter” , “epithelial cell differentiation” , “response to water deprivation” and “tissue homeostasis”が主要なキーワード群として示された。また、細かいキーワードとして“formation of adenocarcinoma”, “cancer development”, and “stress response”が示されており、癌化に通じることが予測された。

##### ③ まとめ

日本人前立腺癌 21 症例の遺伝子変異解析から日本人前立腺癌に関係が深いと示唆される遺伝子を数種類見出した。それらの遺伝子を **Seed genes** としたネットワーク解析から、トランスクリプトーム解析においても

癌化に繋がる遺伝子の制御関係上に変異が存在することがわかり、癌化を促進する可能性が示唆された。本解析は、日本人症例の特徴を詳細に解析した。また、パネル解析等で全ゲノム解析を行っていないような症例に対して、コアネットワークを元に変異の意味づけを行うことが可能である。このような解析は前立腺癌患者の層別化／個別化と、対応する診断・治療に有用な標的の探索・確立を更に進めると考えられる。さらに、これらの結果を踏まえて日本人に見合う前立腺癌診断パネル（前立腺癌版の **Oncotype DX** 遺伝子検査）の作製を行い、今後の診断に役立てる予定である。

#### 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 0 件）

〔学会発表〕（計 2 件）

笠島理加、Analysis of Japanese Prostate Cancer: Mutation analysis and Prediction of Pathway、第 75 回日本癌学会学術総会、2016 年 10 月 6 ～ 8 日、パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）

笠島理加、Analysis of Japanese Prostate Cancer: Mutation analysis and Prediction of Pathway、第五回 NGS 現場の会、2017 年 5 月 22 ～ 24 日、仙台国際センター 展示棟（宮城県・仙台）

〔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

笠島 理加 (KASAJIMA RIKI)

神奈川県立がんセンター・臨床研究所・がん分子病態学部・特別研究員

東大医科学研究所・ヘルスインテリジェンスセンター・客委員研究員

研究者番号：20630875

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )