

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04298

研究課題名(和文) 宿主・がん統合ゲノム解析による早期肺腺発がん機構の解明

研究課題名(英文) Host and cancer genome analysis to understand lung adeno-carcinogenesis

研究代表者

河野 隆志 (KONO, TAKASHI)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長

研究者番号：80280783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：早期がん一般的な肺がんの比較ゲノム解析を行った。その結果、早期がん形成においては、喫煙に関連したシグネチャーが低頻度であり、非喫煙者肺がんで見られる変異シグネチャーの割合が高いことを見出した。よって、非喫煙者での変異原となるDNAアダクトの形成が早期がん形成を担うと結論付けた。また、早期がんではEGFR活性化変異などのがん遺伝子変化はすでに生じているものの、TP53やクロマチン制御遺伝子の変異割合が低く、がん遺伝子の活性化によるinitiationは生じているものの、浸潤やさらなるゲノム異常の蓄積、がん遺伝子ストレスへの対応が十分でない状態であることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早期肺がんの発生や原因となる変異形成の基盤となるゲノム変化の機序が明らかにされた。肺がんの予防に関しては、非喫煙者の変異シグネチャーの基盤となるDNAアダクト形成の解明とその防御が必要であること、肺がんの治療に関しては、TP53遺伝子やクロマチン制御遺伝子の異常が引き起こす悪性化機序のさらなる理解と、ドライバーがん遺伝子はもちろんのこと、クロマチン制御遺伝子の異常に対する分子標的治療法開発の重要性が一層浮き彫りにされた。これらは、難治がんである肺がんの克服に大きな指標となる基盤データであり、新たな学問や産業の活性化につながるものである。

研究成果の概要(英文)：Comparative genome analysis between early-stage and late stage lung cancers made us realize the following things. 1) Mutational signatures predominant in the early-stage lung cancers are not smoking related; DNA adduct formation by unspecified factors other than smoking drive mutagenesis in tumor initiation. 2) Early-stage lung cancer have frequent driver oncogene mutations, such as EGFR mutations, but infrequent TP53 and chromatin regulating gene mutations; Tumor initiation has occurred, but, these tumors have not yet genetically acquired progressive properties, such as tumor invasiveness, genome instability and tolerance to oncogene stress.

研究分野：がんゲノム

キーワード：がん 遺伝子 治療標的 発がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまでに、がん細胞における体細胞変化、肺がん患者が有する遺伝要因という両観点のゲノム解析を行ってきた。前者では、新規ドライバー遺伝子異常として RET がん遺伝子融合の同定に至り (Kohno et al, Nat Med, 2012)、SCRUM-Japan という全国遺伝子スクリーニング機構における遺伝子解析を通じた医師主導治験により RET 阻害剤の有用性 (Response rate 53%) を示した (Yoh et al, Lancet Resp Med, 2017)。また、I-III A 期の肺腺がん手術例 200 例を解析し、EGFR 変異、ALK/RET/ROS1 融合陽性例と比べ、既知ドライバー遺伝子異常が見いだせない例 (Pan-negative 例) では、全遺伝子変異数が多いことを見出した (Saito et al, Cancer Res, 2015)。Pan-negative 例を含めあらたな肺発がんの鍵となる遺伝子異常の同定は滞っているが、これは喫煙者が多く含まれるため、多数の Passenger 変異が存在し、同定を妨げている。そこで、肺発がん機構の解明には、宿主側の因子とがん側の因子の相互作用が生じ始めている上皮肺がんを含めた早期肺がんを題材とした解析が有効であると考え、本研究では上皮内がんを含めた早期肺がん試料のゲノム解析を行った。

## 2. 研究の目的

本研究では、早期肺がん形成の分子機構解明のための以下の項目を明らかにすることを目的とした。

- サブテーマ 1) 早期の肺腫瘍増大速度に影響する遺伝子  
(早期の肺腫瘍増大速度には、どのような遺伝子変異/多型が影響するか?)
- サブテーマ 2) 早期がん形成を担う変異シグネチャー  
(早期がん形成には、特異的な変異圧が見られるか、その標的/原因遺伝子は何か?)
- サブテーマ 3) 早期がん形成に関わるドライバー遺伝子、併発するがん関連遺伝子  
(早期がん形成には、既知ドライバー遺伝子と相互排他的に、あるいは併発してどのような遺伝子異常が生じるか?)

## 3. 研究の方法

本研究では、各サブテーマごとに、以下の研究手法を用いた。

サブテーマ 1) CT 検診の結果に基づき、GGO からの数年に亘る継時的腫瘍増大データの付随した「肺腺腫を経て形成した肺腺がん手術検体」のゲノム解析を行うことで、早期の肺腫瘍増大速度に影響する遺伝子を明らかにする。ドライバーがん遺伝子変異の検出に関しては、ターゲットシーケンスや nCounter アッセイ (Sunami et al, JTO, 2016) 併発するがん関連遺伝子の検出のため、全エクソームシーケンス解析を行う。

サブテーマ 2) 日常の肺がん外科治療後、上皮内がんや早期肺がんと診断された肺腺がん手術検体の変異シグネチャー解析を行い、すでに取得済の 319 例の進行肺腺がん手術例 (Stage I-III A) と比較することで、早期がん形成を担う変異シグネチャーを明らかにする。ゲノム解析の手法は全エクソームシーケンス解析とする。

サブテーマ 3) 日常の肺がん外科治療後、上皮内がんや早期肺がんと診断された肺腺がん手術検体のゲノム解析を行い、すでに取得済の 319 例の進行肺腺がん手術例 (Stage I-III A) とゲノムプロファイルと比較することで、早期がん形成に関わるドライバーがん遺伝子、併発するがん関連遺伝子を明らかにする。ドライバーがん遺伝子変異の検出に関しては、ターゲットシーケンスや nCounter アッセイを用いる。また、併発するがん関連遺伝子の検出のため、全エクソームシーケンス解析を行う。

## 4. 研究成果

サブテーマ 1) 早期の肺腫瘍増大速度に影響する遺伝子  
肺腺腫を経て形成した肺腺がん手術検体について、次世代シーケンサーを用いた 50-150 遺伝子のターゲットシーケンスや nCounter assay、全エクソームシーケンス解析を行い、ドライバーがん遺伝子異常およびそれらとの併発が知られるがん関連遺伝子の変異情報を取得した。また、当該例の血液 DNA を NCC バイオバンクより払い出し、肺腺がん感受性遺伝子座の多型の遺伝子型を決定した。

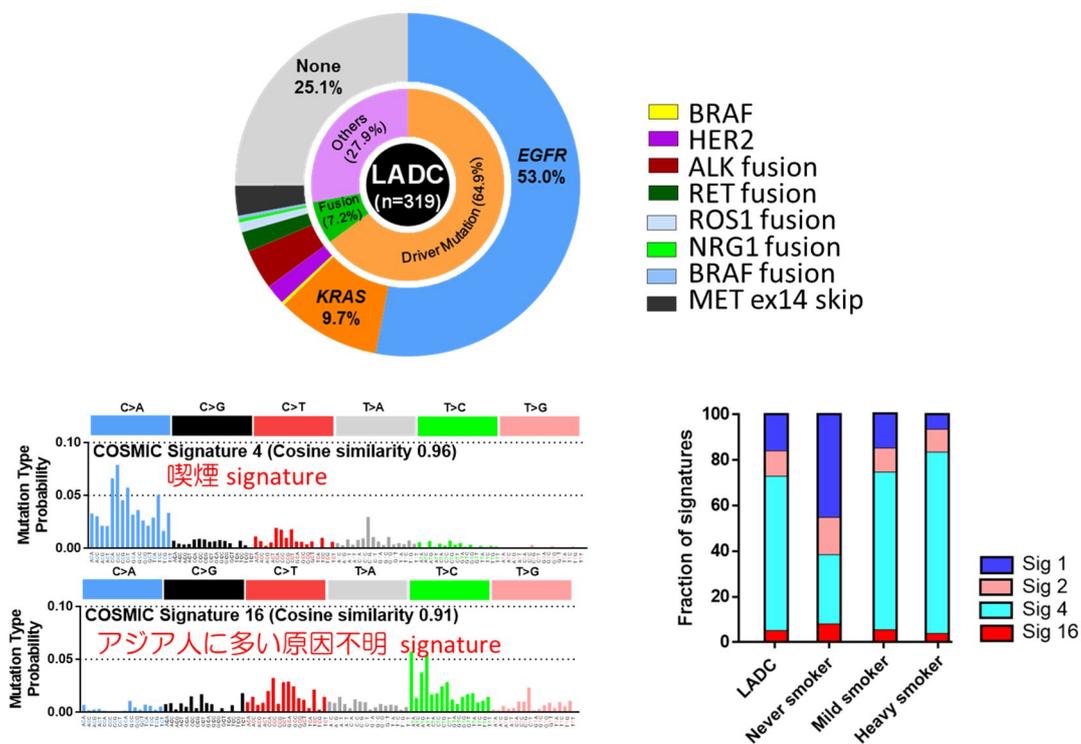
肺腺腫を経て形成した肺腺がん手術検体の CT 画像陰影径データを用い、継時的な腫瘍体

積変動をグラフ化し、各例の腫瘍増大速度を算出した。また、摘出標本の Ki67 染色を行い、増殖細胞の割合を算出した。Ki67 染色割合は一般的な肺腺がんよりも低く、ゆっくりとした腫瘍増大を説明するものであった。この結果は、肺腺腫を経て形成した肺腺がんは、一般的な肺腺がんと比べて増殖が遅いことが示唆された。本結果は、腺腫を経て形成した肺腺がんは、一般的な肺腺がんと比べて増殖が遅いことを示すものである。

これらの症例においては、ドライバーがん遺伝子や TP53 の変異が生じていたが、それらは増殖速度と関連しなかった。また、遺伝子多型についても強い関連を示すものはなかった。よって、既知遺伝子変異以外の要因が増殖速度に影響を与えていると考えられた。

### サブテーマ 2) 早期がん形成を担う変異シグネチャー

肺腺腫から肺腺がんに移行した凍結検体および上皮内がんの全エクソームシーケンス解析を行い、体細胞遺伝子変異を検出し、その情報をもとに変異 signature 解析を行った。その結果、上皮内がんでは、遺伝子変異数が少なく、また、これまでの一般肺腺がん、すなわち Stage I-IIIa 肺腺がんで見られる変異シグネチャーが観察されるものの、喫煙に関連したシグネチャーが低頻度であることが明らかになった。そして、非喫煙者肺がんで見られる変異シグネチャーの割合が高いことを見出した。よって、非喫煙者での変異原となる DNA アダクトの形成が早期がん形成を担うと結論付け、その実態の解明が次の課題となると考えられた。ただし、上皮内がんでは、変異数が少ないことから正確な変異シグネチャーの推定が難しい。そのため、全ゲノムシーケンス解析の必要性も合わせて示唆された。



サブテーマ 3) 早期がん形成に関わるドライバーがん遺伝子、併発するがん関連遺伝子  
一般肺腺がん、すなわち Stage I-IIIa 肺腺がんと上皮内がんの遺伝子変異の特徴を比較した。その結果、上皮内がんでは、遺伝子変異数が少なく、TP53 等の遺伝子変異が低頻度であることを明らかにした。一方、ドライバーがん遺伝子異常は、全体の 75%にみられ、当該遺伝子異常が肺発がんに中心的な役割を果たしていることを再確認した。ドライバーがん遺伝子異常としては、EGFR 遺伝子の活性化変異の頻度が高く、上皮内がん発生に中心的な役割を果たしていることが明らかになった。

一方、上皮内がんではドライバーがん遺伝子変化はすでに生じているものの、TP53 やクロマチン制御遺伝子の変異割合が低いことが明らかにされた。TP53 遺伝子の失活はがん細胞の浸潤能の増大に寄与する一方、クロマチン制御遺伝子の異常は、細胞の分化異常を引き起こすとともに、細胞内の抗酸化ストレス状態を変化させ、ゲノム異常のさらなる蓄積やがん遺伝子ストレスへの耐性化への関与が示唆される。よって、早期がんでは、がん遺伝子の活性化による initiation は生じているものの、浸潤やさらなるゲノム異常の蓄積、がん遺伝子ストレスへの対応が十分でない状態であることが明らかにされた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Uchida S, Tsuta K, Kusumoto M, Shiraishi K, Kohno T, Watanabe S.	4. 巻 27
2. 論文標題 Radiopathologic correlation of collision lung cancer with ground-glass opacity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Asian Cardiovascular and Thoracic Annals	6. 最初と最後の頁 45 ~ 48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0218492318811549	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 Saito M, Kono K, Kohno T.	4. 巻 7
2. 論文標題 Identification of a novel therapeutic target in driver-negative non-small cell lung cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Translational Lung Cancer Research	6. 最初と最後の頁 S218 ~ S220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/tlcr.2018.08.10	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 Seki Y, Fujiwara Y, Kohno T, Yoshida, Goto Y, Horinouchi H, Kanda S, Nokihara H, Yamamoto N, Kuwano K, Ohe Y.	4. 巻 3
2. 論文標題 Circulating cell-free plasma tumour DNA shows a higher incidence of mutations in patients with extrathoracic disease progression EGFR	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ESMO Open	6. 最初と最後の頁 e000292 ~ e000292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/esmoopen-2017-000292	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 Sereewattanawoot S, Suzuki A, Seki M, Sakamoto Y, Kohno T, Sugano S, Tsuchihara K, Suzuki Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of potential regulatory mutations using multi-omics analysis and haplotyping of lung adenocarcinoma cell lines.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 adenocarcinoma cell lines.	6. 最初と最後の頁 4926
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-23342-1	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 Kohno T, Tabata J, Nakaoku T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 REToma: a cancer subtype with a shared driver oncogene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Carcinogenesis	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/carcin/bgz184	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 Wirth LJ, Kohno T (co-first author), Udagawa H, Ishii G, Ebata KB, Tuch B, Zhu EY, Nguyen M, Smith S, Hanson LM, Burkhard MR, Cable L, Blake JF, Condroski KR, Brandhuber BJ, Andrews S, Rothenberg SM, Goto K.	4. 巻 3
2. 論文標題 Emergence and targeting of acquired and hereditary resistance to multikinase RET inhibition in RET-altered cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCO Prec Oncol	6. 最初と最後の頁 No page
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1200/P0.19.00189	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 該当する

1. 著者名 Seki M, Katsumata E, Suzuki A, Sereewattanawoot S, Sakamoto Y, Mizushima-Sugano J, Sugano S, Kohno T, Frith MC, Tsuchihara K, Suzuki Y.	4. 巻 26
2. 論文標題 Evaluation and application of RNA-Seq by MinION	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 DNA Res	6. 最初と最後の頁 55-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/dnares/dsy038	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 Suzuki A, Onodera K, Matsui K, Seki M, Esumi H, Soga T, Sugano S, Kohno T, Suzuki Y, Tsuchihara K	4. 巻 9
2. 論文標題 Characterization of cancer omics and drug perturbations in panels of lung cancer cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 19529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-55692-9	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 -

1. 著者名 Mizuno T, Fujiwara Y, Yoshida K, Kohno T, Ohe Y	4. 巻 14
2. 論文標題 Next-Generation sequencer analysis of pulmonary pleomorphic carcinoma with a CD74-R0S1 fusion successfully treated with crizotinib	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Thorac Oncol	6. 最初と最後の頁 e106-e108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2019.01.005	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 Ogiwara H, Takahashi K, Sasaki M, Kuroda T, Yoshida H, Watanabe R, Maruyama A, Makinoshima H, Chiwaki F, Sasaki H, Kato T, Okamoto A, Kohno T	4. 巻 35
2. 論文標題 Targeting the vulnerability of glutathione metabolism in ARID1A-deficient cancers.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Cell	6. 最初と最後の頁 177-190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ccell.2018.12.009	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5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kohno T
2. 発表標題 Genome profile and mutational signature of lung cancer
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kohno T.
2. 発表標題 Novel Targetable Oncogenes in Lung Cancer.
3. 学会等名 18th World Conference on Lung Cancer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kohno T.
2. 発表標題 2.RET oncogene fusion: from discovery to clinical trial and cancer clinic.
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河野隆志
2. 発表標題 臨床試験から学ぶキナーゼ阻害薬の感受性・耐性
3. 学会等名 2019構造活性フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohno T.
2. 発表標題 RET fusion and mutation in lung cancer; translation based on pan-Japan genome screening
3. 学会等名 RET@CRICK meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ゲノム生物学研究分野  
[https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/genome\\_biology/index.html](https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/genome_biology/index.html)

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