

令和 2 年 6 月 28 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16613

研究課題名(和文) 網羅的遺伝子発現解析技術を用いたKRAS変異肺癌における新規バイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Exploration of novel biomarkers in KRAS mutant-lung cancer using comprehensive gene expression analysis

研究代表者

山浦 匠 (Yamaura, Takumi)

福島県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：20747240

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Family with sequence similarity 83, member B(FAM83B)に着目した。KRAS遺伝子変異陽性原発性肺腺癌8例の検討で組織学的に粘液産生性腫瘍にFAM83Bの発現が高い傾向にあった。臨床で広く検索が行われKRAS遺伝子変異と排他的関係にあるEGFR遺伝子変異の有無で層別化した肺腺癌症例で検討するとEGFR遺伝子変異陰性症例でFAM83Bが有意に高発現であり、またEGFR遺伝子変異の有無に依らずFAM83B高発現群で術後無再発生存期間、全生存とも短く予後不良因子であることが示された。肺癌由来細胞株でのFAM83B RNAiにより増殖阻害が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でFAM83Bが肺腺癌増殖と関連する因子であることが示された。肺腺癌の内KRAS遺伝子変異は粘液産生性肺腺癌との関連があり、この両者はそれぞれに治療抵抗性を示し予後不良な症例群であると報告されている。上記症例群でFAM83Bが高発現である、またFAM83Bを治療標的とした増殖阻害が臨床治療に応用できる可能性があると考えられ今後の検討を要する。肺癌診療への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：We focused on Family with sequence similarity 83, member B (FAM83B). In eight cases of KRAS mutant-lung adenocarcinoma (ADC), FAM83B was highly expressed in mucinous ADC tissue. Next, we compared FAM83B expression in lung ADC stratified by presence or absence of EGFR mutation, which is widely examined clinically and has an exclusive relation with KRAS mutation. FAM83B was significantly highly expressed in EGFR wild type group, that contain with a relatively high proportion of KRAS mutant-ADC. High FAM83B group had shorter postoperative recurrence-free survival and overall survival regardless of presence or absence of EGFR gene mutation significantly. Growth inhibition was confirmed by FAM83B RNAi in lung cancer-derived cell lines.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌 KRAS FAM83B

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年の肺癌治療において細胞増殖信号の過剰発現を起こす複数のドライバー遺伝子変異が発見され、またこれらに対応する分子標的薬治療が開発され従来の抗癌剤治療と比較し高い奏功率を示し従来の殺細胞性抗癌剤治療と比較し良好な成績が報告されている

(文献 1、2)。本邦の肺腺癌で約半数に認める EGFR 遺伝子変異に対する分子標的治療薬である EGFR チロシンキナーゼ阻害薬をはじめ、またその他の稀少変異に対しても全国規模の癌遺伝子スクリーニングが行われ症例の集積と各遺伝子変異に対する治療薬開発が行われている(文献 2)。

(2) しかしながらこれら癌医療の個別化が 2000 年代初頭から急速に進んでいる一方で本邦の肺癌による死亡率は未だに高く、本邦の男性第一位、女性第二位(文献 3)である。また分子標的薬治療の治療適応になる症例は EGFR 変異と稀少変異を含めた約 60%の症例であり、driver mutation 中二番目に多く 9.4%を占める KRAS 変異肺癌症例は有効な治療が確立されていないことに加え従来の抗癌剤治療に対しても治療耐性を示す予後不良因子であり(文献 4)、新たな治療戦略の開発が急務であると考えられた。

(3) 本学では 2007 年から医療-産業橋渡し研究(Translational Research, TR)事業が行われており 2015 年までに総数 10000 を超える各種悪性腫瘍と隣接正常組織検体から抽出された DNA、mRNA、タンパクを用いた大規模網羅的遺伝子発現解析を通じて悪性腫瘍に対する医療への貢献を図っている。その成果として当教室で抽出した Family with sequence similarity 83, member B (FAM83B)が肺扁平上皮癌の診断、予後マーカーとして有用であることを報告してきた(文献 5)。さらに FAM83B は肺癌以外でも乳癌などの悪性腫瘍に発現しており、近年では乳腺上皮細胞株において EGFR を起点とした増殖シグナル伝達経路に関与し、新たな治療標的となる可能性が示唆されている(文献 6)。

2. 研究の目的

(1) 網羅的遺伝子解析を通じて肺腺癌、特に KRAS 遺伝子変異陽性肺癌のバイオマーカーを探索する。

(3) 肺腺癌における FAM83B の機能的意義を検討する。

3. 研究の方法

(1) 本研究は福島県立医科大学倫理委員会の承認を得て施行された(承認番号 2775)。

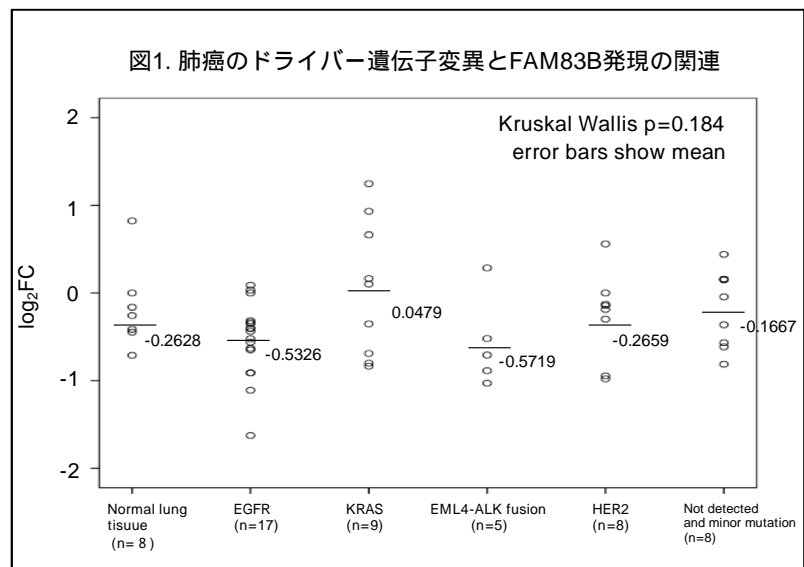
(2) 福島県立医科大学呼吸器外科で 2008 年から 2015 年の間に原発性肺腺癌に対して手術を行った 216 例を対象症例とした。手術検体から得られた FAM83B mRNA 発現と臨床病理学的因子を比較検討した。臨床腫瘍検体中の mRNA 発現は本学 TR センターにおける網羅的遺伝子発現解析システム (文献 7) を利用した cDNA マイクロアレイで行われた。

(4) 2013 年以降の症例では全エクソーム解析が行われ、ドライバー遺伝子変異検索が行われた。KRAS 遺伝子変異はこの解析結果に基づく。

(5) ヒト肺腺癌由来細胞株 (HLC-1; KRAS 遺伝子変異肺腺癌由来、NCI-H1975; EGFR-exon19 deletion 変異肺腺癌由来) に対して siRNA を用いたノックダウン検討を行い、細胞数とタンパク発現を評価した。

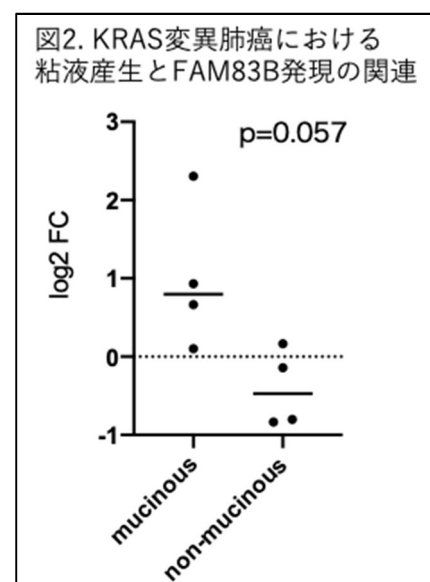
4. 研究成果

(1) 次世代シーケンサーでの全エクソーム解析を通じて 9 例の KRAS 遺伝子変異陽性肺腺癌が同定された。EGFR, KRAS, HER2, EML4-ALK 転座の各遺伝子変異肺腺癌と正常肺組織中の FAM83B mRNA 発現を比較



し KRAS 変異肺腺癌では EGFR 遺伝子変異肺腺癌よりも高発現であることが示された (図 1)。また KRAS 遺伝子変異は粘液産生腺癌との関連が報告されている (文献 8、9)。KRAS 遺伝子変異肺腺癌の中でも粘液産生性腫瘍においてより FAM83B 発現が高い傾向にあった (図 2)。

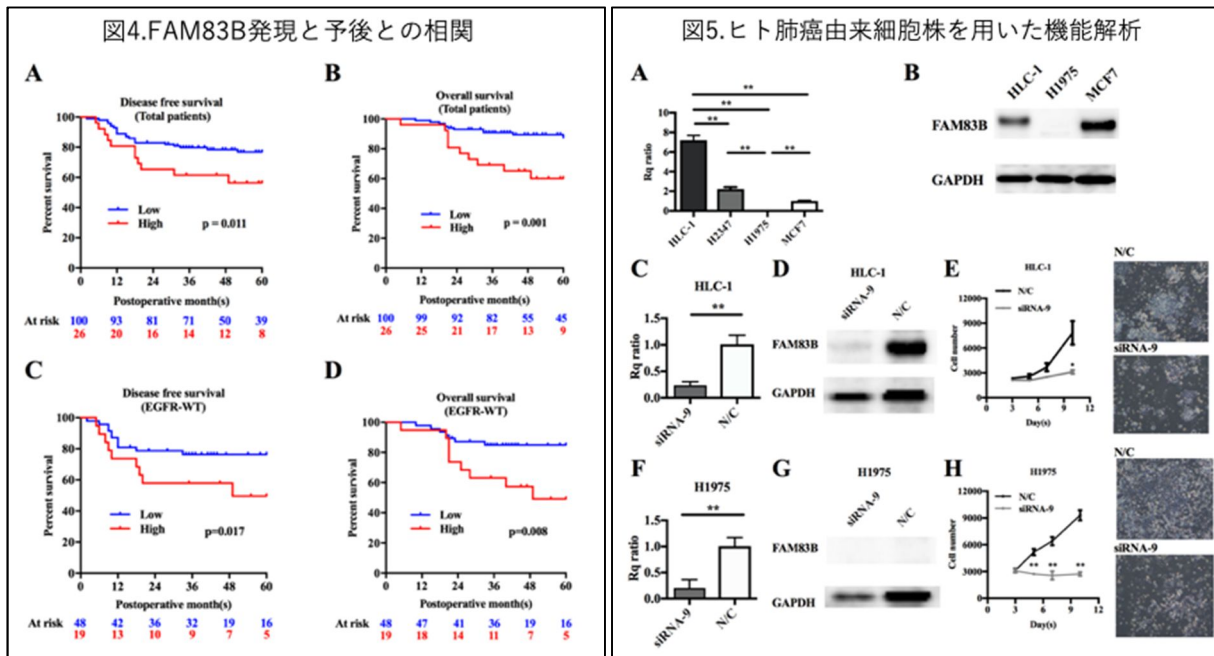
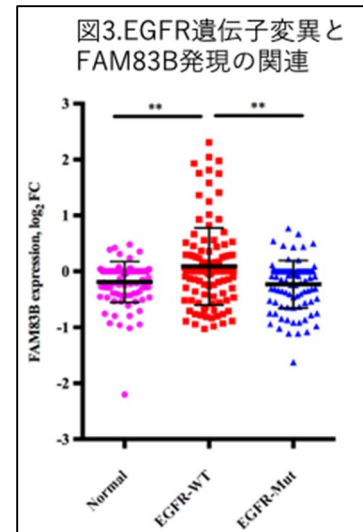
(2) KRAS 遺伝子変異は臨床で測定されず大規模な検討が困難であったため、臨床で広く検索が行われ KRAS 遺伝子変異と排他的関係にあり本邦のドライバー遺伝子として最多を占める EGFR 遺伝子変異の有無で層別化した症例群での比較検討を行った。EGFR 遺伝子変異陰性群において



FAM83B 高発現である結果が得られた (図 3)。また EGFR 遺伝子変異の有無に依らず FAM83B 高発現群で術後無再発生存期間、全生存とも短く予後不良因子であることが示された (図 4)。

(3) ヒト肺腺癌由来細胞株での機能解析を行った。HLC-1 (KRAS 変異陽性)、H1975 (EGFR 遺伝子変異陽性) を用い、siRNA によるノックダウンを行ったところ、双方とも有意に細胞増殖抑制効果が認められた (図 5)。

(4) 上記結果から、FAM83B が肺腺癌における予後不良因子であることが示された。KRAS 遺伝子変異肺癌との関連性については、少数での検討に留まっているため今後大規模な検討を要すると考えられる。



引用文献

1. National Comprehensive Cancer Network: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp. Accessed June 20, 2020
2. Kohno T, et al. RET Fusion Gene: Translation to Personalized Lung Cancer Therapy Cancer Sci. 2013;104:1396-1400

3. 厚生労働省 https://www.mhlw.go.jp/toukei_hakusho/toukei/index.html. Accessed June 20, 2020
4. Hames ML, et. Al. Correlation Between KRAS Mutation Status and Response to Chemotherapy in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung cancer Lung cancer. 2016;92:29-34
5. Okabe N, et al. FAM83B Is a Novel Biomarker for Diagnosis and Prognosis of Lung Squamous Cell Carcinoma. *Int J Oncol*. 2015;6:999-1006
6. Cipiriano R, et. al. FAM83B Mediates EGFR- And RAS-driven Oncogenic Transformation. *J Clin invest*. 2012;122:3197-3210
7. Miura M, et al. Differential Responses of Normal Human Coronary Artery Endothelial Cells Against Multiple Cytokines Comparatively Assessed by Gene Expression Profiles. *FEBS Letters*. 2006;580:6871-6879
8. Kadota K, et al. Associations between mutations and histologic patterns of mucin in lung adenocarcinoma: invasive mucinous pattern and extracellular mucin are associated with KRAS mutation. *Am J Surg Pathol*. 2014;38: 1118-1127.
9. Cha YJ, Kim HR, Lee HJ, Cho BC, Shim HS. Clinical course of stage IV invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer*. 2016;102:82-88.

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 1件）

1. 著者名 Yamaura Takumi, Suzuki Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Pseudoprogression and Rapid Response to Pembrolizumab in a Patient with Advanced Lung Adenocarcinoma with Loss of Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutation after Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Oncology	6. 最初と最後の頁 e209 ~ e210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2018.05.021	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 Owada-Ozaki Yuki, Muto Satoshi, Takagi Hironori, Inoue Takuya, Watanabe Yuzuru, Fukuhara Mitsuro, Yamaura Takumi, Okabe Naoyuki, Matsumura Yuki, Hasegawa Takeo, Ohsugi Jun, Hoshino Mika, Shio Yutaka, Nanamiya Hideaki, Imai Jun-ichi, Isogai Takao, Watanabe Shinya, Suzuki Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Prognostic Impact of Tumor Mutation Burden in Patients With Completely Resected Non-Small Cell Lung Cancer: Brief Report	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Oncology	6. 最初と最後の頁 1217 ~ 1221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2018.04.003	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 Yamaura T, Ezaki J, Okabe N, Takagi H, Ozaki Y, Inoue T, Watanabe Y, Fukuhara M, Muto S, Matsumura Y, Hasegawa T, Hoshino M, Osugi J, Shio Y, Waguri S, Tamura H, Imai JI, Ito E, Yanagisawa Y, Honma R, Watanabe S, Suzuki H	4. 巻 15
2. 論文標題 Family with sequence similarity 83, member B is a predictor of poor prognosis and a potential therapeutic target for lung adenocarcinoma expressing wild-type epidermal growth factor receptor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1549 ~ 1558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.7517	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山浦 匠, 尾崎有紀, 福原光朗, 武藤哲史, 岡部直行, 長谷川剛生, 塩 豊, 鈴木弘行
2. 発表標題 肺腺癌切除検体におけるPD-L1発現の検討
3. 学会等名 第35回日本呼吸器外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山浦 匠, 高木玄教, 尾崎有紀, 武藤哲史, 岡部直行, 長谷川剛生, 塩 豊, 鈴木弘行
2. 発表標題 肺腺癌におけるPD-L1発現の検討
3. 学会等名 第59回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山浦 匠, 尾崎有紀, 井上卓哉, 福原光朗, 武藤哲史, 岡部直行, 長谷川剛生, 塩 豊, 鈴木弘行
2. 発表標題 EGFR-TKIによりEGFR遺伝子変異が消失しPD-1阻害療法でPseudo-progressionを伴う急激な奏功を認めた一例
3. 学会等名 第31回日本バイオセラピー学会学術集会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takumi Yamaura, Naoyuki Okabe, Yuki Owada, Takuya Inoue, Mitsuro Fukuhara, Satoshi Muto, Takeo Hasegawa, Junji, Ezaki, Takao Isogai, Shinya Watanabe, Hiroyuki Suzuki
2. 発表標題 Functional analysis of Family with sequence similarity 83, member B in lung adenocarcinoma from Translational Research in Fukushima Medical University
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamaura T, Ezaki J, Okabe N, Takagi H, Ozaki Y, Inoue T, Watanabe Y, Fukuhara M, Muto S, Matsumura Y, Hasegawa T, Hoshino M, Osugi J, Shio Y, Waguri S, Tamura H, Imai JI, Ito E, Yanagisawa Y, Honma R, Watanabe S, Suzuki H
2. 発表標題 Clinical and therapeutic impact of family with sequence similarity 83, member B in EGFR gene wild type-lung adenocarcinoma
3. 学会等名 2017 ASCO Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔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