

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17130

研究課題名(和文)食道癌における包括的ゲノム情報と画像情報の融合：Radiogenomicsの実践

研究課題名(英文) Fusion of comprehensive genomic and imaging information in esophageal cancer: Radiogenomics

研究代表者

横田 元 (Hajime, Yokota)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：20649280

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)：食道癌において、強い予後規定とされている血清microRNA-1246の値をCTから予測可能であった。また、予測された血清microRNA-1246もまた、予後規定であることを確認した。同様の手法を膵癌に応用し、p53、PD-L1、integrin  $\alpha$  Vといった予後と関連する遺伝子が、CTで予測可能であることを示した。また、deep learningを利用した遺伝子選択法の開発を行い、画像と遺伝子発現を対比する、Radiogenomicsと称される研究分野の確立に寄与した。これらの研究成果は総説を発表し、Radiogenomicsを広く認知させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食道癌は、遺伝子レベルでの予後因子が模索されてきている。ただ、生検が必要という侵襲性やコストの面で臨床で遺伝子情報を利用するのは難しい。一方、CTやMRI、PETといった画像は日常臨床で必要不可欠であり、必ず撮像されている。Radiogenomicsは、遺伝子と画像との関連を模索する研究領域である。画像は病理像、機能のある程度反映しており、遺伝子発現とも関連した情報を内包していると思われる。画像を解析することで、非侵襲的で低コストに遺伝子情報を得ることが可能になり、食道癌の治療方針決定に寄与することができる。

研究成果の概要(英文)：The serum microRNA-1246, which is considered a strong prognostic marker in esophageal cancer, could be predicted from CT. The predicted serum microRNA-1246 was also confirmed to be prognostic. We applied the same method to pancreatic cancer and showed that prognostic genes such as p53, PD-L1, and integrin  $\alpha$  V can be predicted by CT. We also developed a gene selection method using deep learning and contributed to the establishment of a research field called Radiogenomics. The results of these studies were published in a review article, and Radiogenomics was widely recognized.

研究分野：画像診断

キーワード：食道癌 扁平上皮癌 Radiogenomics Epigenomics

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

食道癌は、近年においてもその罹患率と死亡率が近接し、膵癌や胆道癌とならんで予後不良な悪性腫瘍として認識されている。近年になり、診断技術の向上や手術、放射線、化学療法を組み合わせた集学的治療による治療水準の発達によりその予後は改善したものの、進行食道癌症例の割合は依然高く、更に根治切除が可能な症例に限ってもその5年生存率は未だ50%程度と改善の余地を残す。食道癌の治療成績向上のためには食道癌の発生、進展および治療感受性に関わる因子を明らかにする必要がある。

Radiomics は、画像から形態/ヒストグラム/テクスチャ解析といった数学的な手法を利用して、数十から時に数千の画像特徴量を抽出し、他の臨床情報との対比を行う研究分野である。これまで使用されてきた MRI での平均 ADC 値や FDG-PET での最大 SUV 値といったものも画像特徴量の一つだが、Radiomics ではそのような値を大量に抽出し、解析に使用するのが特徴である。画像特徴量から機械学習アルゴリズムを利用して診断モデルを構築した場合、従来の解析法よりも高い精度を出すことがあると報告されている。人工知能を利用した自動診断/診断補助システムの基幹の一つとも期待されている。Radiomics とゲノム情報を対比した場合は、Radiogenomics と呼ばれる。ゲノム情報を得ることは、年々改善されているとはいえ、まだコストが高いことが多く、生検などの侵襲を伴うことが通常である。すなわち、画像を使用してゲノム情報を予測することが、Radiogenomics に期待されていることの一つである。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、食道癌という難治性癌に注目し、「Genomics/Epigenomics 情報と画像情報を対比・統合する Radiogenomics/Radioepigenomics という分野を臨床応用可能なレベルに押し上げる」ことである。具体的には、画像情報から予後・術前化学療法反応性と関連する Genomics/Epigenomics 情報を予測可能か模索する。

### 3. 研究の方法

千葉県がんセンターで治療された食道癌患者を対象とした。以下の情報を収集する。

- A) 臨床データ: 年齢、性別、臨床病期、腫瘍マーカー(SCC, CEA)など
- B) 予後データ: 再発、治療関連死亡、全死亡
- C) 画像データ: (治療開始前) Dynamic 造影 CT(単純・造影後2相)、MRI(拡散強調像を含む)、FDG-PET、(術前化学療法後) Dynamic 造影 CT、MRI
- D) 病理データ: 化学療法反応性、腫瘍細胞・壊死・線維化といった組織の同在
- E) Genomics/Epigenomics 情報: NGS を用いたエキソーム解析、マイクロ RNA 及び long non coding RNA の発現解析

解析の概要を以下に示し、図も加える。

Screening phase と Validation phase に分け、前者で模索的な解析を、後者で検証し、最終的な解析結果を得る。

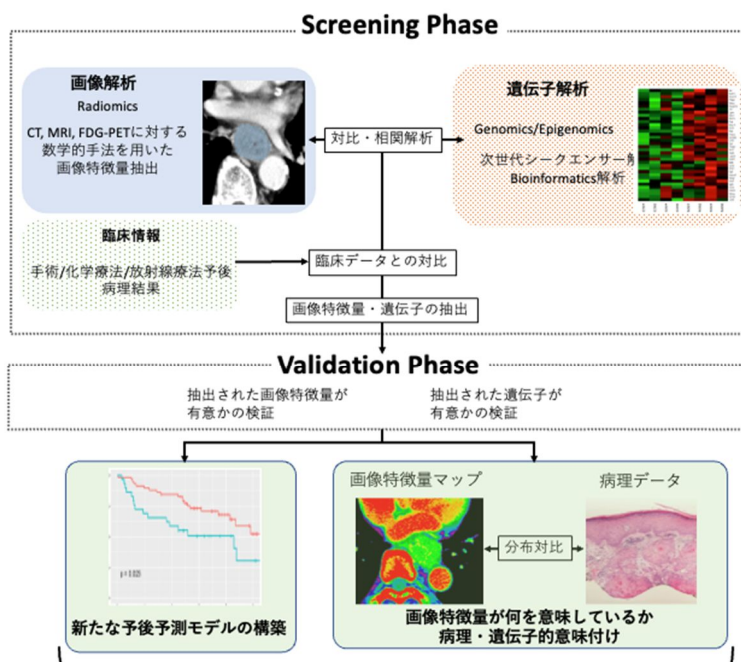
#### 1) Screening phase

i) 内視鏡や病理情報を参照しつつ、領域選択を行う。

ii) 形態解析、ヒストグラム解析、テクスチャ解析を使用した画像特徴量抽出を行う。複数回撮像がある場合は、その差分を新たな画像特徴量とする。ウェーブレット変換やトポロジー解析による画像特徴量も加え、精度が向上するか検討する。

iii) 癌組織、非癌組織でエキソーム解析による遺伝子発現解析を行う。同時に、non-coding RNA である mirco RNA、long non coding RNA の情報も得る。Gene set enrichment analysis など、Bioinformatics 解析も行う。

iv) 画像特徴量と遺伝子発現の相関解析によって、有意な画



食道癌に対するRadiogenomics/Radioepigenomicsの確立

像特徴量・遺伝子を抽出する

2) Validation phase

i) Screening phase で有意とされた遺伝子・画像特徴量が、新たな症例解析でも本当に有意か検証する。遺伝子は定量的 PCR 法で遺伝子発現の定量値を得る。

ii) 検証されたデータを基に、遺伝子・画像特徴量の相関を明らかにし、予後予測モデルを築する。

#### 4. 研究成果

以下の論文を発表した。それぞれについて概要を記載する。

##### **食道癌関連の研究成果**

1. Hoshino I\*, Yokota H\*, Ishige F, Iwatate Y, Takeshita N, Nagase H, Uno T, Matsubara H. Radiogenomics predicts the expression of microRNA-1246 in the serum of esophageal cancer patients. *Sci Rep* 2020;10:2532. doi: 10.1038/s41598-020-59500-7. \*equal contribution

目的：血清 microRNA-1246 量は食道扁平上皮癌の強い予後規定因子として知られている。血清 microRNA-1246 量の CT で予測できるか検討した。

方法：造影 CT 画像に対して食道癌の領域を領域選択した。領域選択した部分から 45 種類の画像特徴量を抽出した。microRNA-1246 と相関する画像特徴量から、予測モデルを作成した。作成されたモデルから算出された microRNA-1246 と、実際の microRNA-1246 の予後予測性能を比較した。

結果：予測モデルから算出された microRNA-1246 は、実際の microRNA-1246 と同様に独立した予後予測因子であり、その大小は予後良好群と不良群に分かることができた。

2. Hoshino I, Ishige F, Iwatate Y, Gunji H, Kuwayama N, Nabeya Y, Yokota H, Takeshita N, Iida K, Nagase H, Matsubara H. Cell-free microRNA-1246 in different body fluids as a diagnostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2021;16:e0248016. doi: 10.1371/journal.pone.0248016.

1.の研究で使用したデータを拡張し、副次的な研究を行った。

目的：microRNA-1246 は血清のみならず、尿、唾液からも検出される。食道癌における臨床的な有効性について検討した。

方法：食道癌患者、健常者で、血清、尿、唾液の microRNA-1246 量を計測した。それぞれの microRNA-1246 量が、食道癌患者と健常者を区分できるか、予後予測因子となりうるかを検討した。

結果：食道癌患者と健常者は、ROC 解析において AUC=0.91, 0.82, 0.80 (血清、尿、唾液) で区別できた。血清 microRNA-1246 は生存解析において、予後規定因子であった。

##### **Radiogenimics に関する総説論文**

3. Hoshino I\*, Yokota H\*. Radiogenomics of gastroenterological cancer: The dawn of personalized medicine with artificial intelligence based image analysis. *Ann Gastroenterol Surg* 2021;5:427-435. doi: 10.1002/ags3.12437. \*equal contribution

これまでの研究結果を、Review としてまとめた。記載した abstract の日本語訳を記す。

Radiogenomics は、Radiomics と Genomics という 2 つの omics を統合した新しい医学分野であり、腫瘍組織サンプルを必要とする従来の個別化医療戦略に大きなパラダイムシフトをもたらす可能性がある。また、データの取得には特殊な画像機器や特殊な撮影条件を必要とせず、CT、MRI、PET などの画像情報を臨床で利用することが可能であり、Radiogenomics の汎用性と費用対効果が期待されている。これまで、Radiogenomics は脳腫瘍や乳がんを中心に発展してきたが、近年、消化器がんを対象とした Radiogenomics 研究の報告が増えてきている。本総説では、Radiogenomics 研究の手法を概観し、消化器がんにおける Radiogenomics 研究の現状をまとめる。また、今後、膨大な omics 情報を統合的に解析するためには、人工知能の応用が不可欠と考えられ、最新技術を含め、今後の研究の方向性について議論する。

##### **解析手法に関する研究成果**

4. Mori Y, Yokota H, Hoshino I, Iwatate Y, Wakamatsu K, Uno T, Suyari H. Deep learning-based gene selection in comprehensive gene analysis in pancreatic cancer. *Sci Rep* 2021;11:16521. doi: 10.1038/s41598-021-95969-6.

Radiogenomics はまた発展途上の分野であり、解析法自体の進歩も必要とされている。ここでは、Genomics として予後と関連している遺伝子を選択するのにおいて、deep learning を応用した特徴量選択法を開発し、実際に試みた。

目的：Deep learning は従来 black box とされ、入力した値がどのように使用されて予測結果に

も結びついているかを判断することは難しかった。特徴選択層という我々が開発した層が追加された deep learning モデルでは、deep learning のモデルを学習させることで、入力した値のどれが結果と強く関連しているか判断することができる。この新たなモデルが、遺伝子の特徴選択として使用できるか検討した。

方法：膵癌 13 例の手術検体から癌領域と正常膵を取り出し、RNA シークエンシングにより遺伝子発現データを抽出した。このデータから、膵癌と正常膵組織の分別、術後 1 年異常生存したかどうかの分別を、開発した deep learning モデルに遺伝子データを入力し、学習させた。学習後、特徴選択層で分別に大きく関わっていると思われる遺伝子を抽出した。抽出された遺伝子は、公開データベースでも予後規定因子が確かめた。

結果：タスク では、ACACB、ADAMTS6、NCAM1、CADPS が、タスク では CD1D、PLA2G16、DACH1、SOWAHA が抽出された。これらの遺伝子は、公開データベースでも予後規定因子であった。

### 食道癌以外の癌に関する研究成果

5. Iwatate Y, Hoshino I, Yokota H, Ishige F, Itami M, Mori Y, Chiba S, Arimitsu H, Yanagibashi H, Nagase H, Takayama W. Radiogenomics for predicting p53 status, PD-L1 expression, and prognosis with machine learning in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2020;123:1253-1261. doi: 10.1038/s41416-020-0997-1.

目的：膵癌の p53、PD-L1 発現を CT 画像から予測可能か検討した。

方法：膵癌 107 例の患者で、免疫染色を利用した p53 と PD-L1 発現量を調べた。CT で膵癌に対する関心領域を設定し、画像特徴量を抽出した。抽出した画像特徴量から機械学習を利用して予測モデルを作成した。予測させた p53、PD-L1 が予後と関連しているか検討した。

結果：ROC 解析において、機械学習モデルは AUC=0.795、0.683 (p53、PD-L1) で予測できた。免疫染色で調べて p53、PD-L1 発現は予後と有意に関連していた。一方、予測された p53 は予後と有意に関連していたが、PD-L1 は有意差は認めなかった。

6. Iwatate Y, Hoshino I, Ishige F, Itami M, Chiba S, Arimitsu H, Yanagibashi H, Nagase H, Yokota H, Takayama W. Prognostic significance of p16 protein in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Clin Oncol* 2020;13:83-91. doi: 10.3892/mco.2020.2047.

5. の論文で使用したデータからの副次的な論文である。

目的： p16 遺伝子は、細胞周期阻害機能や腫瘍抑制機能として知られており、様々な腫瘍において変異が報告されている。p16 変異と予後との関連については、これまでの研究で得られた知見に一貫性がないため、依然として議論の余地がある。膵癌患者において、p16 の発現量と予後に関連する臨床病理学的特徴との関係性を評価した。

方法：膵癌患者 103 名の組織を入手し、免疫染色により p16 の発現を評価した。 p16 発現と臨床病理学的因子との間に相関は認められなかった。p16 発現陰性は、Kaplan-Meier 法による予後不良とは有意に関連しなかった。

7. Iwatate Y\*, Yokota H\*, Hoshino I, Ishige F, Kuwayama N, Itami M, Mori Y, Chiba S, Arimitsu H, Yanagibashi H, Takayama W, Uno T, Lin J, Nakamura Y, Tatsumi Y, Shimozato O, Nagase H. Machine learning with imaging features to predict the expression of ITGAV, which is a poor prognostic factor derived from transcriptome analysis in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2022;60. doi: 10.3892/ijo.2022.5350. \*equal contribution

目的：膵癌の RNA シークエンスによる Genomics 解析と、CT 画像解析法である Radiomics の融合を図った。

方法：膵癌組織の RNA シークエンス解析により膵癌患者 12 名の組織について、RNA シークエンシングを実施し、予後と関連する遺伝子を genomics の手法で選択した。その結果は、膵癌 107 例で免疫染色によって遺伝子発現の検証を行った。また、CT 画像から得られた画像特徴量を利用し、選択された遺伝子を予測できるかを検討した。

結果：RNA シークエンスデータを解析した結果、integrin  $\alpha$  V (ITGAV) が選択された。ITGAV 発現は、シークエンスと免疫染色の結果から 転移や予後などの臨床病理学的因子と有意な関連を認めた。ITGAV 高発現群 群は有意に予後不良であった。機械学習に寄る ITGAV 予測モデルは、ある程度の検出性を示し (AUC=0.697)、予測された ITGAV 高発現群も予後不良と関連した (P=0.048)。

8. Hoshino I\*, Yokota H\*, Iwatate Y, Mori Y, Kuwayama N, Ishige F, Itami M, Uno T, Nakamura Y, Tatsumi Y, Shimozato O, Nagase H. Prediction of the differences in tumor mutation burden between primary and metastatic lesions by radiogenomics.

Cancer Sci 2021. doi: 10.1111/cas.15173. \*equal contribution

目的：Tumor mutational burden (TMB)は、がん患者における免疫チェックポイント阻害剤への反応性を示すバイオマーカーとして注目されている。本研究では、大腸癌患者の原発巣と肝転移巣における TMB の状態を評価した。また、CT 画像をもとに、Radiogenomics により原発および肝転移性病変の TMB の状態を推定した。

方法：研究対象は、肝転移を有する大腸癌患者 24 名であった。患者から採取した原発巣と肝転移巣から DNA を抽出し、次世代シーケンスで TMB 値を評価した。TMB 値が 10/100Mb 以上の場合、高値と判定した。TMB の Radiogenomics 解析は、CT 画像を用いた機械学習と予測モデルの構築により行われた。

結果：24 例中 7 例 (29.2%) で原発巣と肝転移巣で TMB の状態が異なっていた。TMB 状態が高いか低いかを予測するためにラジオジェノミック解析を実施した。ROC 解析の AUC は、原発巣と肝転移でそれぞれ 0.732 と 0.812 であった。また、構築した TMB 状態不一致モデルの感度、特異度、精度は、それぞれ 0.857, 0.600, 0.682 であった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Hoshino Isamu, Yokota Hajime, Ishige Fumitaka, Iwatate Yosuke, Takeshita Nobuyoshi, Nagase Hiroki, Uno Takashi, Matsubara Hisahiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Radiogenomics predicts the expression of microRNA-1246 in the serum of esophageal cancer patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2532
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-59500-7	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 Hoshino Isamu, Yokota Hajime	4. 巻 -
2. 論文標題 Radiogenomics of gastroenterological cancer: The dawn of personalized medicine with artificial intelligence based image analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ags3.12437.	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 Hoshino Isamu, Ishige Fumitaka, Iwatate Yosuke, Gunji Hisashi, Kuwayama Naoki, Nabeya Yoshihiro, Yokota Hajime, Takeshita Nobuyoshi, Iida Keiko, Nagase Hiroki, Matsubara Hisahiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Cell-free microRNA-1246 in different body fluids as a diagnostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0248016	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 Mori Yasukuni, Yokota Hajime, Hoshino Isamu, Iwatate Yosuke, Wakamatsu Kohei, Uno Takashi, Suyari Hiroki	4. 巻 11
2. 論文標題 Deep learning-based gene selection in comprehensive gene analysis in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-95969-6	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 Iwatate Yosuke, Hoshino Isamu, Yokota Hajime, Ishige Fumitaka, Itami Makiko, Mori Yasukuni, Chiba Satoshi, Arimitsu Hidehito, Yanagibashi Hiroo, Nagase Hiroki, Takayama Wataru	4. 巻 123
2. 論文標題 Radiogenomics for predicting p53 status, PD-L1 expression, and prognosis with machine learning in pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1253 ~ 1261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0997-1	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 Iwatate Yosuke, Hoshino Isamu, Ishige Fumitaka, Itami Makiko, Chiba Satoshi, Arimitsu Hidehito, Yanagibashi Hiroo, Nagase Hiroki, Yokota Hajime, Takayama Wataru	4. 巻 13
2. 論文標題 Prognostic significance of p16 protein in pancreatic ductal adenocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular and Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 83 ~ 91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mco.2020.2047	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 Iwatate Yosuke, Yokota Hajime, Hoshino Isamu, Ishige Fumitaka, Kuwayama Naoki, Itami Makiko, Mori Yasukuni, Chiba Satoshi, Arimitsu Hidehito, Yanagibashi Hiroo, Takayama Wataru, Uno Takashi, Lin Jason, Nakamura Yuki, Tatsumi Yasutoshi, Shimozato Osamu, Nagase Hiroki	4. 巻 60
2. 論文標題 Machine learning with imaging features to predict the expression of ITGAV, which is a poor prognostic factor derived from transcriptome analysis in pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2022.5350	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 Hoshino Isamu, Yokota Hajime, Iwatate Yosuke, Mori Yasukuni, Kuwayama Naoki, Ishige Fumitaka, Itami Makiko, Uno Takashi, Nakamura Yuki, Tatsumi Yasutoshi, Shimozato Osamu, Nagase Hiroki	4. 巻 113
2. 論文標題 Prediction of the differences in tumor mutation burden between primary and metastatic lesions by radiogenomics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 229 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15173	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4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 横田 元
2. 発表標題 Radiogenomics : 基礎、研究の現状と課題・今後の展望
3. 学会等名 エーザイ社内研修会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hajime Yokota, Isamu Hoshino, Iwadata Yosuke, Ishige FUmitaka, Jason Lin, Nagase Hiroki, Takashi Uno
2. 発表標題 Radiogenomics for epigenomic data: estimated serum microRNA-1246 from contrast-enhanced CT can predict prognosis of esophageal squamous-cell carcinoma
3. 学会等名 RSNA（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hajime Yokota, Isamu Hoshino, Iwadata Yosuke, Ishige FUmitaka, Jason Lin, Nagase Hiroki, Takashi Uno
2. 発表標題 Radiogenomicsによる食道扁平上皮癌患者における血清microRNA-1246の発現予測
3. 学会等名 日本医学放射線学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hajime Yokota, Isamu Hoshino, Iwadata Yosuke, Ishige FUmitaka, Jason Lin, Nagase Hiroki, Takashi Uno
2. 発表標題 Radiogenomics for epigenomic data: estimated serum microRNA-1246 from contrast-enhanced CT can predict prognosis of esophageal squamous-cell carcinoma
3. 学会等名 AIMS Body Imaging 2019（招待講演）
4. 発表年 2019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
研究協力者	星野 敢  (Itamu Hoshino)  (10400904)	千葉県がんセンター・発がん研究グループ 発がん制御研究部・客員研究員	
研究協力者	森 康久仁  (Mori Yasukuni)  (40361414)	千葉大学・大学院工学研究院・助教	
研究協力者	岩立 陽祐  (Iwatate Yosuke)  (10815731)	千葉県がんセンター・肝胆膵外科・医長	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------