

令和 5 年 5 月 9 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07382

研究課題名（和文）RSPO融合遺伝子陽性大腸癌の臨床病理学的特徴の解析

研究課題名（英文）Clinicopathological analysis of RSPO fusion-positive colorectal carcinoma

研究代表者

橋本 大輝（Hashimoto, Taiki）

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医師

研究者番号：40773875

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：1019例の大腸癌をRT-PCRでスクリーニングし、29例（2.8%）のRSPO融合陽性例を同定した。患者は女性17名、男性12名で、13例（45%）は右側性であった。腫瘍の約半数は局所的または広範な粘液産生を示し、その頻度はRSPO融合陰性例より有意に高かった。全エクソーム解析により、合計27例（93%）でKRAS/BRAF/NRAS変異が確認された。一方、WNT経路遺伝子（APC/CTNNB1/RNF43）の変異は認められなかった。RSPO融合は、全生存期間や無再発生存期間に統計的に有意な影響を与えなかった。これらの臨床病理学的・分子生物学的特徴は、先行研究のプール解析でも確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

R-spondin標的薬剤の臨床応用にあたっては、病理検体を用いてRSPO融合陽性例を同定し、適応となる患者を見つけ出す必要があるが、本研究によりRSPO融合陽性大腸癌の臨床病理学的・分子生物学的特徴が明らかになった。今後、効率的なRSPO融合の検出法の確立が期待される。

研究成果の概要（英文）：We screened 1019 CRCs for RSPO fusions using multiplex reverse transcription-PCR, and subjected RSPO fusion-positive tumors to whole-exome sequencing (WES). Of the 1019 CRCs, 29 (2.8%) were found to harbor RSPO fusions, consisting of five with an EIF3E-RSPO2 fusion and 24 with PTPRK-RSPO3 fusions. Patients included 17 women and 12 men, and 13 tumors (45%) were right-sided. Half of the tumors (13/29, 45%) had a focal or extensive mucinous component, which was significantly more frequent than in RSPO fusion-negative tumors (13%; $P = 8.1 \times 10^{-7}$). WES identified KRAS, BRAF, and NRAS mutations in 27 tumors (93%). However, pathogenic mutations in major WNT pathway genes, such as APC, CTNNB1, and RNF43, were absent. Although RSPO fusion status did not significantly influence overall or recurrence-free survival. A pooled analysis of previous studies confirmed these clinicopathological and genetic features.

研究分野：人体病理学

キーワード：大腸癌 WNT R-spondin RSPO 鋸歯状病変

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸癌では、ほぼ全ての病変で WNT 経路の活性化が起きており、WNT 経路活性化は大腸癌の発生・進展において主要な役割を担っていると考えられている。このため、腫瘍細胞特異的に WNT 経路を阻害し抗腫瘍効果を発揮する、WNT 阻害剤の開発が進められてきた。近年、大腸癌の一部に *PTPRK-RSPO3* 融合および *EIF3E-RSPO2* 融合という遺伝子異常が認められることが報告された。*RSPO* の遺伝子産物である R-spondin は、LGR 受容体のリガンドで、WNT 経路を活性化する。*RSPO* は、他の遺伝子と融合遺伝子を形成することで機能的な R-spondin の過剰発現を導き、リガンド依存性の WNT 経路活性化を引き起こす。大腸癌において *RSPO* 融合は、*APC* 変異などの他の WNT 経路遺伝子異常と相互排他的に認められ、WNT 依存性の腫瘍増殖を促進していると考えられている。R-spondin には 1~4 のファミリーがあり、正常大腸粘膜では R-spondin 2/3 の間で redundancy があることが知られている。このため、R-spondin を標的とする薬剤は、非腫瘍組織への傷害性が少なく新たな WNT 阻害剤として臨床応用が期待されている。

2. 研究の目的

R-spondin 標的薬剤の臨床応用にあたっては、病理検体を用いて *RSPO* 融合陽性例を同定し、適応となる患者を見つけ出す必要があるが、現在までに効率的な検出法は確立されておらず、大腸癌における *RSPO* 融合の検討は少数にとどまり、*RSPO* 融合陽性大腸癌の臨床像や病理組織学的な特徴については不明な点が多かった。本研究では、国立がん研究センター中央病院に保管されている大腸癌サンプルを用い、*RSPO* 融合陽性例を同定し、*RSPO* 融合陽性大腸癌の臨床病理学的・分子生物学的特徴を明らかにする。

3. 研究の方法

これまで、大腸腫瘍では 5 つの recurrent fusion が知られているが、我々はこれら全ての fusion を単一反応で検出可能な multiplex RT-PCR を開発した。この multiplex RT-PCR を用いて、当センターで保管している大腸癌の新鮮凍結標本 (1019 例) を対象に、*RSPO* 融合陽性例をスクリーニングした。同定された *RSPO* 融合陽性例について、全エクソーム解析により分子生物学的特徴を明らかにするとともに、臨床像病理学的特徴の解析を行った。

4. 研究成果

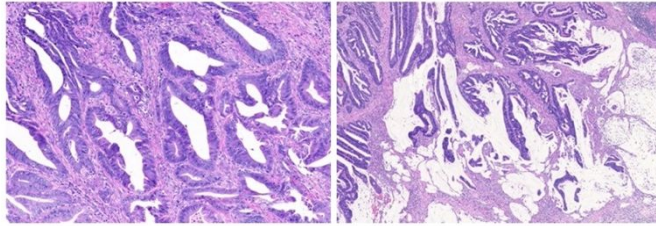
大腸癌 1019 例の中から、29 例 (2.8%) の *RSPO* 融合陽性例を同定した。fusion transcript の内訳は、*EIF3E-RSPO2* 融合 5 例、*PTPRK-RSPO3* 融合 24 例であった。*RSPO* 融合陽性大腸癌は女性に多く、(女性 17 vs 男性 12)、約半数 (13 例、45%) は右側に存在していた (表 1)。組織学的に、腫瘍の約半数 (13/29、45%) において局所的または広範な粘液産生が認められた (図 1)。この頻度は *RSPO* 融合陰性例と比較してより有意に高かった (45% vs 13%; $P = 8.1 \times 10^{-7}$)。4 例 (14%) はミスマッチ修復蛋白質を欠損していた。全エクソーム解析により、計 27 例 (93%) で *KRAS*、*BRAF*、*NRAS* 変異が確認された。一方、主要な WNT 経路遺伝子 (*APC*、*CTNNB1*、*RNF43*) の病的変異は認められなかった。*RSPO* 融合ステータスは、全生存期間や無再発生存期間に統計的に有意な影響を与えなかった。これらの臨床病理学的および遺伝学的特徴は、先行研究のプール解析でも確認された。以上より、*RSPO* 融合陽性大腸癌は、複数の特徴的な臨床病理学的および分子生物学的特徴を有する大腸癌の稀なサブグループを構成することが示された。

表1. *RSPO*融合陽性大腸癌の臨床病理学的特徴

<i>RSPO</i> 融合	陽性 (n = 29)	陰性 (n = 990)	P値
年齢、中央値(範囲)	64 (36-86)	64 (17-92)	0.82
性別			
女性	17 (59%)	389 (39%)	0.036
男性	12 (41%)	601 (61%)	
部位			
右側結腸	13 (44%)	275 (28%)	0.044 ^a
左側結腸	8 (28%)	418 (42%)	
直腸	8 (28%)	297 (30%)	
分化度			
高～中分化	26 (90%)	948 (96%)	0.12
低分化	3 (10%)	42 (4%)	
粘液成分			8.1 × 10 ⁻⁷
< 10%	16 (55%)	863 (87%)	
≥ 10%	13 (45%)	127 (13%)	

a 右側結腸 vs. 左側結腸 + 直腸

図1. *RSPO*融合陽性大腸癌の組織像



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hashimoto Taiki, Takayanagi Daisuke, Yonemaru Junpei, Naka Tomoaki, Nagashima Kengo, Yatabe Yasushi, Shida Dai, Hamamoto Ryuji, Kleeman Sam O., Leedham Simon J., Maughan Timothy, Takashima Atsuo, Shiraishi Kouya, Sekine Shigeki	4. 巻 127
2. 論文標題 Clinicopathological and molecular characteristics of RSP0 fusion-positive colorectal cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1043 ~ 1050
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41416-022-01880-w	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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		
英国	University of Oxford		