

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08393

研究課題名(和文) 胃底腺型胃癌の発癌機構の解明

研究課題名(英文) Carcinogenesis of gastric adenocarcinoma of fundic-gland type

研究代表者

上山 浩也 (Ueyama, Hiroya)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：60621935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では胃底腺型胃癌患者の発癌・進展機序の要となる原因遺伝子を特定する事を目的とした。胃底腺型胃癌の新しい組織学的分類を作成し、その分類を基に臨床病理学的解析と次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行った。胃底腺型胃癌は、OGAとGA-FG、GA-FGMの3つのタイプに分類され、OGAとGA-FGは低悪性度の胃上皮性腫瘍、GA-FGMは高悪性度の胃上皮性腫瘍であることが判明した。また、全てのタイプでGNAS mutationを認め、同一系統の特殊な胃腫瘍であることも明らかになった(J Gastroenterol. 2021; 56:814 - 828)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により胃底腺型胃癌の新たな組織学的分類が確立し、各タイプの臨床病理学的特徴と特定の遺伝子異常も見出され、胃底腺型胃癌患者の発癌・進展機序の全容解明に必要な基盤を確立することができた。今後は多領域シークエンスによる微小組織の包括的ゲノムプロファイリングを施行することが可能となり、将来的には機能解析と発現検証を経て臨床応用が期待されるリキッドバイオプシーを利用した「がん進化を標的とした治療戦略」の基盤となりうる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to identify the main genes that play a key role in the mechanism of carcinogenesis and progression in patients with gastric epithelial neoplasm of fundic-gland mucosa lineage (GEN-FGML). We developed a new histological classification of GEN-FGML and performed clinicopathological analysis and comprehensive gene analysis using next-generation sequence based on this classification. GEN-FGML was classified into three types, OGA, GA-FG, and GA-FGM. OGA and GA-FG demonstrated low-grade epithelial neoplasm, and GA-FGM should be categorized as an aggressive variant of GEN-FGML that demonstrated high-grade epithelial neoplasm. The frequent presence of GNAS mutation was a characteristic genetic feature of GEN-FGML in mutation analysis using next-generation sequencing (J Gastroenterol. 2021;56:814-828).

研究分野：胃癌

キーワード：胃癌 胃底腺型胃癌 胃底腺型腺癌 胃底腺粘膜型腺癌 ピロリ未感染胃癌

## 1. 研究開始当初の背景

H. pylori が胃癌の definite carcinogen であることは既知の事実であり(OARC Monogry Eval Carcinog Risks Hum 1994. Uemura N et al. N Engl J Med. 2001.)、本邦では 2013 年に H. pylori 感染胃炎に対する除菌治療が保険収載され、H. pylori 感染率は年次的に低下傾向を示している。しかしながら、H. pylori 総除菌時代を迎えようとしている現在において、H. pylori 未感染胃癌は胃癌の約 1~7%に存在し、かつ、その報告は近年増加傾向にあり、今後さらに社会的重要性が増す疾患であると考えられる。この H.pylori 未感染胃癌の中で胃底腺型胃癌は最も注目されている胃癌であり、2017 年には胃癌取り扱い規約第 15 版において特殊型の一つとして胃底腺型腺癌という名称で掲載され、2019 年には WHO 分類第 5 版にも Oxyntic gland adenoma と Gastric adenocarcinoma of fundic-gland type という名称で掲載されたため、胃癌研究の最新のトピックスの一つである。胃底腺型胃癌は、申請者である上山、研究協力者である八尾らが 2010 年に初めて提唱した疾患概念であり (Ueyama H, Yao T et al. Am J Surg Pathol. 2010)、我々の研究グループは胃底腺型胃癌の分子病理学的解析を世界に先駆け継続的に発表し、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達系関連遺伝子の変異やメチル化による同伝達系の活性化、sonic hedgehog シグナル伝達系の抑制、GNAS、Kras 変異による GTP 結合蛋白関連シグナル伝達系の活性化などが胃底腺型胃癌の発癌に関与している可能性を報告してきた (Yao T et al. Hum pathol. 2013. Yao T et al. Hum Pathol. 2014. Yao T et al. Virchows Arch. Yao T et al. Digestion. 2017. Yao T et al. Pahol Int. 2017.)。しかしながら、胃底腺型胃癌の発癌・発育進展機序に関しては全容は解明されておらず、将来的な予後予測バイオマーカーや新規治療標的薬による臨床応用の基盤となる更なる分子生物学的解析が急務である。

近年、次世代シーケンサー (next generation sequencer, NGS)の登場により、がんにおける体細胞変異や遺伝子増幅・欠損の包括的なプロファイルが解読可能となり、The Cancer Genome Atlas (TCGA)に代表される様々ながん種における遺伝子変異アトラスが作成され、胃癌の分野では、4 つの分子サブタイプ : Epstein-Barr virus 陽性癌、マイクロサテライト不安定癌、ゲノム安定癌、染色体不安定癌が新たに提唱されるに至っている。各サブタイプの胃癌はそれぞれ特徴的な遺伝子変異、メチル化異常、遺伝子増幅、蛋白質過剰発現などの分子異常を有しており、臨床病理学的特徴との関連や分子標的治療薬の標的となる可能性が示唆されているが(The Cancer Genome Atlas Research Network, Nature. 2014)、胃底腺型胃癌の分子サブタイプに関する報告はない。また、同一患者の腫瘍から複数箇所を無作為に得た試料において塩基配列を解読する多領域シーケンス (multi-region sequencing)とよばれるアプローチにより、がん組織内にはゲノム的に広範な不均一性が存在することが明らかとなった (Jamal-Hanjani M et al. N Engl J Med. 2017)。多領域シーケンスはがん進化研究に応用され、統計科学的なアプローチにより様々な遺伝子異常の組み合わせを有するサブクローンの進化原理が明らかとなりつつある。(Hayashi T et al. JCO Precis Oncol. 2017; Hayashi T et al. Sci Transl Med. 2017. Hayashi T et al. Clin Caner Res, 2018. Hosokawa M, et al. Sci Rep. 2017.)。

そこで、本手法を用いて胃底腺型胃癌のがん組織の多領域かつ包括的なゲノム解析を行い、がん進化の観点から発癌・発育進展の分子機構の解明に寄与することを着想した。

## 2. 研究の目的

本研究では、胃底腺型胃癌の発癌原因因子を特定する事を目的とし、多領域かつ包括的なゲノム解析による胃底腺型胃癌の科学的データベース構築に基づいて生物学的理解を深め、病理組織形態とサブクローン進化構造の関係を解明する点が独創的である。本研究で得られる成果により、将来的な予後予測バイオマーカーや新規治療標的薬による臨床応用の基盤となることが期待される。

## 3. 研究の方法

本研究計画では、研究期間中に以下の研究項目を設定し、がん進化構造の観点から胃底腺型胃癌の発癌・発育進展の分子機構を明らかにする。

多領域シーケンシングによるがん微小組織の包括的ゲノムプロファイリング

順天堂大学医学部附属順天堂医院で治療された胃底腺型胃癌症例で、検体のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE)サンプルを用いて、Ion AmpliSeq™ Comprehensive Cancer Panel を用いた 409 遺伝子に対する網羅的遺伝子解析より発癌・進展過程に関わるゲノム異常・エピゲノム異常候補の同定を経て、多領域シーケンスを行い、がん細胞及びがん微小環境を含む直径 100  $\mu$ m 程度の組織がどのような遺伝子異常・遺伝子発現を示しているかを包括的に解析する。申請者らは既に 10 例の試料を集積しており、平成 32 年度末までに 15 例の症例蓄積を予定している。直径 100  $\mu$ m の領域を Automated tissue micro-dissection punching system を用いて各症例

3-5箇所程度、正確かつ迅速に収集する。得られた試料は核酸抽出、ライブラリー作製し、全エクソン及びRNA シークエンスを施行する。また、同症例の凍結サンプル及び術前生検試料が使用可能な症例は生検試料も同時にシークエンスを施行し比較対象とする。これらの試料解析総数は15症例で各々3-5サンプル、最大75サンプル程度となる。我々は既にFFPE検体から微小組織のRNA シークエンスを施行する実験系確立に成功しており、現在ゲノム抽出による遺伝子変異同定の解析中である。

#### 特異的遺伝子発現の機能解析

上記で得られた遺伝子変異、遺伝子発現の他、tumor mutation burden といったこれまでバルク解析されていた事項に関してバイオインフォマティクス的手法を用いて組織学的治療効果判定と遺伝子発現のクラスタリングや、サブクローン進化構造をクラスタリングし、治療抵抗性に関連する遺伝子のリストアップも行う。それらの遺伝子に対してCrisper-cas9を用いたゲノム編集を行い、in vivo, in vitro で薬剤感受性・抵抗性を検証する。

#### 新規バイオマーカーに対する臨床病理学的解析

上記で同定・検証された遺伝子がコードするタンパク質に対し多重免疫染色による発現検証を行い、臨床病理学的素因とともにバイオマーカーとしての有用性を解析する。尚、タンパクレベルで有用性が明らかではなかった場合でも、同定された遺伝子は血漿中のcell-free DNAでのバイオマーカーとなる可能性があり、将来的に臨床応用が期待されるリキッドバイオプシーを利用した「がん進化を標的とした治療戦略」の基盤となりうる。

## 4. 研究成果

申請者らが提唱した胃癌の組織亜型・胃底腺型胃癌はH. pylori感染とは関係のないH. pylori未感染胃癌の一つであり、2019年にはWHO分類第5版にOxyntic gland adenoma (OGA)とGastric adenocarcinoma of fundic-gland type (GA-FG)という名称で本邦から初めて掲載された特殊な胃癌である。本研究では胃底腺型胃癌患者の発癌・進展機序の要となる原因遺伝子を特定する事を目的として、多領域シークエンスとサブクローン進化構造のクラスタリングの結果から、発癌関連遺伝子の同定及び機能解析を施行するとともに、臨床コホートを用いた検証を行う。2020年度では、胃底腺型胃癌の新しい組織学的分類を作成し、その分類を基に臨床病理学的解析と次世代シークエンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行った。胃底腺型胃癌は、OGAとGA-FG、Gastric adenocarcinoma of fundic-gland mucosa type (GA-FGM)の3つのタイプに分類され、OGAとGA-FGは低悪性度の胃上皮性腫瘍、GA-FGMは高悪性度の胃上皮性腫瘍であることが判明した。遺伝子解析では、すべてのタイプにある一定頻度でGNAS mutationを認め、同一系統の特殊な胃腫瘍であることも明らかになった。この解析結果は、J Gastroenterol. 2021;56:814-828.に掲載された。今後は胃底腺型胃癌と通常型胃癌の4つの分子サブタイプ (Epstein-Barr virus陽性癌、マイクロサテライト不安定癌、ゲノム安定癌、染色体不安定癌)との関係性を評価し、多領域シークエンスによる微小組織の包括的ゲノムプロファイリングを施行する予定である。

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiroya Ueyama, Takashi Yao, Yoichi Akazawa et al.	4. 巻 56
2. 論文標題 Gastric epithelial neoplasm of fundic-gland mucosa lineage proposal for a new classification in association with gastric adenocarcinoma of fundic-gland type	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 814-828
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-021-01813-z	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 上山浩也1、八尾隆史2、永原章仁1
2. 発表標題 胃底腺型胃癌関連腫瘍の組織学的分類（WHO分類）と臨床病理学的特徴
3. 学会等名 日本消化器関連学会週間 JDDW2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ueyama H, Yao T, Akazawa Y, Hayashi T, Utsunomiya H, Uchida R, Abe D, Oki S, Suzuki N, Ikeda A, Yatagai N, Komori H, Takeda T, Matsumoto K, Ueda K, Matsumoto K, Asaoka D, Hojo M, Nagahara A
2. 発表標題 Gastric adenocarcinoma of fundic-gland differentiation
3. 学会等名 United European Gastroenterology Week 2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計11件

1. 著者名 上山 浩也, 八尾 隆史, 谷田貝 昂, 小森 寛之, 赤澤 陽一, 竹田 努, 松本 紘平, 松本 健史, 仲程 純, 山城 雄也, 津山 翔, 橋本 貴史, 富田 夏実, 峯 真司, 梶山 美明, 永原 章仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 16
3. 書名 胃と腸 早期胃癌の範囲診断up to date 主題 早期胃癌の範囲診断 範囲診断困難例とその臨床的対応 胃型の腺癌	

1. 著者名 上山 浩也, 松本 紘平, 八尾 隆史, 阿部 大樹, 沖 翔太郎, 鈴木 信之, 池田 厚, 谷田貝 昂, 小森 寛之, 赤澤 陽一, 竹田 努, 上田 久美子, 松本 健史, 浅岡 大介, 北條 麻理子, 永原 章仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 16
3. 書名 胃と腸 H. pylori未感染胃の上皮性腫瘍 H. pylori未感染上皮性腫瘍の内視鏡的特徴 胃底腺型胃癌	

1. 著者名 上山浩也, 八尾隆史, 永原章仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学出版	5. 総ページ数 10
3. 書名 消化器内科 「ピロリ菌未感染および除菌後の早期胃がんの診断」2-2「胃底腺型胃癌」	

1. 著者名 上山浩也、八尾隆史、鈴木信之、沖翔太郎、谷田貝昂、赤澤陽一、松本紘平、松本健史、北條麻理子、永原章仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 6
3. 書名 消化器内視鏡 胃癌診断を極める (C) H.pylori未感染胃粘膜に生じる胃癌の内視鏡診断 2. 胃底腺型胃癌	

1. 著者名 上山浩也, 八尾隆史, 永原章仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 日本臨牀社	5. 総ページ数 6
3. 書名 日本臨床 「消化管症候群 (第3版) I 胃・十二指腸」 1. 胃 5. 腫瘍性病変 (10) 胃底腺型胃癌	

1. 著者名 上山浩也, 八尾隆史, 永原章仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 日本メディカルセンター	5. 総ページ数 6
3. 書名 臨床消化器内科 『慢性胃炎を再考する』 12. 胃底腺型胃癌-基礎と臨床	

1. 著者名 上山浩也, 八尾隆史, 永原章仁	4. 発行年 2022年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 2
3. 書名 『消化器内視鏡』第34巻増刊号 特集 胃疾患アトラス 改訂版	

1. 著者名 上山浩也, 永原章仁	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1
3. 書名 【図説「胃と腸」画像診断用語集2022】疾患 胃 胃底腺型胃癌(図説)	

1. 著者名 上山 浩也, 八尾 隆史, 池田 厚, 谷田貝 昂, 赤澤 陽一, 竹田 努, 上田 久美子, 北條 麻理子, 永原 章仁	4. 発行年 2022年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 7
3. 書名 『消化器内視鏡』【胃癌内視鏡診断の最新ムーブメント-H.pylori陰性胃癌のすべて】H.pylori未感染胃癌 胃底腺型胃癌(解説)	

1. 著者名 上山 浩也, 赤澤 陽一, 松本 紘平, 松本 健史, 八尾 隆史, 永原 章仁	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本メディカルセンター	5. 総ページ数 8
3. 書名 臨床消化器内科 【消化管がん検診・スクリーニングの手引き】(第V章)上部消化管の検診で知っておくべき前癌状態と腫瘍性疾患 胃底腺型胃癌(解説)	

1. 著者名 上山浩也, 八尾隆史, 永原章仁	4. 発行年 2021年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 3
3. 書名 Helicobacter Research 【Helicobacter Topics!-Helicobacter pylori未感染胃疾患の最新情報-】胃底腺型胃癌の最新知見(解説)	

〔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
研究分担者	永原 章仁 (Nagahara Akihito)  (00266040)	順天堂大学・医学部・教授  (32620)	
研究分担者	八尾 隆史 (Yao Takashi)  (20243933)	順天堂大学・医学部・教授  (32620)	
研究分担者	林 大久生 (Hayashi Takuo)  (70569128)	順天堂大学・医学部・准教授  (32620)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	齋藤 剛  (Saito Tsuyoshi)  (80439736)	順天堂大学・医学部・准教授    (32620)	
研究分担者	赤澤 陽一  (Akazawa Yoichi)  (80822006)	順天堂大学・医学部・助教    (32620)	

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