

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16191

研究課題名(和文) 充実型低分化胃癌の細分類および新規ゲノム異常の探索

研究課題名(英文) Genomic and pathological analysis towards classification of solid-type poorly differentiated gastric carcinoma

研究代表者

六反 啓文 (ROKUTAN, Hirofumi)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00782559

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)：胃の充実型低分化腺癌(por1)は、充実性・胞巣状の増殖を主体とする腺腔形成に乏しい胃癌の一亜型である。本亜型のなかで悪性度の高い症例の分子遺伝学的特徴は不明であったが、免疫染色およびゲノム解析を通して、腫瘍の悪性度とp53異常との関連が示された。また一部症例では、充実性成分の範囲に一致してSWI/SNF複合体構成要素の発現低下がみられたため、本亜型に特徴的な充実性増殖パターンがSWI/SNF経路の異常により規定されている可能性が示唆された。更に、本亜型に比較的高頻度にみられる遺伝子増幅が抽出された。以上のように、por1胃癌の悪性度や形態学的変化に関連する分子遺伝学的異常の一端が解明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃の充実型低分化腺癌(por1)は、充実性・胞巣状の増殖を主体とする腺腔形成に乏しい胃癌の一亜型である。本亜型のなかで悪性度の高い症例の分子遺伝学的特徴は今まで不明であったが、本研究によって一部が解明された。比較的低コストで決定できる分子サブタイプの情報を活用することによって、本亜型に該当する胃癌を外科的に切除した後に層別化してフォローアップできる可能性がある。また、胃以外の臓器においても充実型増殖を示す癌が発生することから、他臓器のそうした癌を研究する際にSWI/SNF経路に着眼することの重要性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：Solid-type poorly differentiated gastric carcinoma (SPGC) accounts for around 16% of gastric cancers. This research project, supported by Japanese grant KAKENHI, was aimed to reveal unknown genomic abnormalities and to establish molecular subclassification of SPGC. A subgroup with increased nodal metastases was highlighted through MLH1/p53-based subclassification. Expression of several components of the SWI/SNF chromatin remodeling complex were found to be lost in the tumor area with solid-type morphology, suggesting their contribution to the characteristic growth pattern of SPGCs.

研究分野：腫瘍病理学

キーワード：充実性増殖 SWI/SNF p53 遺伝子増幅 リンパ節転移

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胃の充実型低分化腺癌 (por1) は、充実性・胞巣状の増殖を主体とする腺腔形成に乏しい胃癌の一亜型であり、胃癌全体の約 16% を占める。既存の分類における本亜型の位置づけは本邦と欧米で異なっており、検討の余地がある。また、本亜型のなかで悪性度の高い症例の分子遺伝学的特徴は不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、充実型低分化腺癌として括られる症例全体を、組織形態・分子遺伝学的異常・臨床的悪性度をふまえた観点から理解し、具体的には下記の達成を目指しながら亜分類することである。

- (1) 本亜型の特徴である充実性増殖を規定する分子遺伝学的な異常を解明する。
- (2) 臨床的悪性度に関連する分子遺伝学的な亜分類法を探索する。
- (3) ドライバーとして既に知られている分子遺伝学的な異常を持たない症例を抽出し、新規ゲノム異常を探索、同定する。

3. 研究の方法

東京大学医学部附属病院で外科的に切除された胃癌のうち充実型低分化腺癌に分類される 50 症例を対象とした。臨床病理学的因子を抽出しつつ、代表的な腫瘍切片を選択して p53 や MLH1 や SWI/SNF 複合体構成要素の免疫染色を施行した。凍結腫瘍サンプルのある症例については、全エクソン解析や RNA シークエンスを施行した。以上から、ゲノム異常や発現パターンに立脚した分子遺伝学的分類を試みた。更に、The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース上で本亜型に比較的高頻度に増幅がみられる遺伝子を抽出し、自施設症例でのホルマリン固定組織切片を用いた FISH 法にて遺伝子増幅のスクリーニングを行った。

4. 研究成果

(1) リンパ節転移個数と関連するサブタイプの同定：本亜型では p53 異常や MLH1 陰性化の頻度が比較的高いことが、先行研究の結果を対象から予め想定されていた。自施設症例を対象として MLH1, p53 の免疫染色および全エクソン解析を施行することにより、マイクロサテライト不安定型 (頻度 26%)、p53 異常型 (頻度 56%)、そしてそのいずれにも該当しない型 (以下「分子サブタイプ不明型」と括る; 頻度 18%) の 3 型に分類してリンパ節転移個数との関連を調べた。全症例を対象とした解析では、p53 異常型において、他の群と比べ、リンパ節転移が 7 個以上 (N3 以上) となる症例の割合が有意に高かった ($p = 0.0486$; 図 1)。続いて、リンパ節転移個数が pT 因子に応じて増加傾向を示していたことを確認したのち、pT 因子を揃えてリンパ節転移個数を比較した。T4 症例では、p53 異常型のリンパ節転移個数が、それ以外の症例に比べて有意に多かった ($p = 0.0274$)。T2 症例でも T4 症例間比較と同様の傾向が認められたが、T2 症例数が少なかった影響もあり有意差は得られなかった。T3 症例では、有意な傾向は見出されなかったが、分子サブタイプ不明群の中に、リンパ節転移個数が極端に多い症例が認められた。以上より、本亜型の悪性度にまず p53 異常が関連していることが示唆された。また、分子サブタイプ不明型の症例群は悪性度が多様である可能性が示唆された。

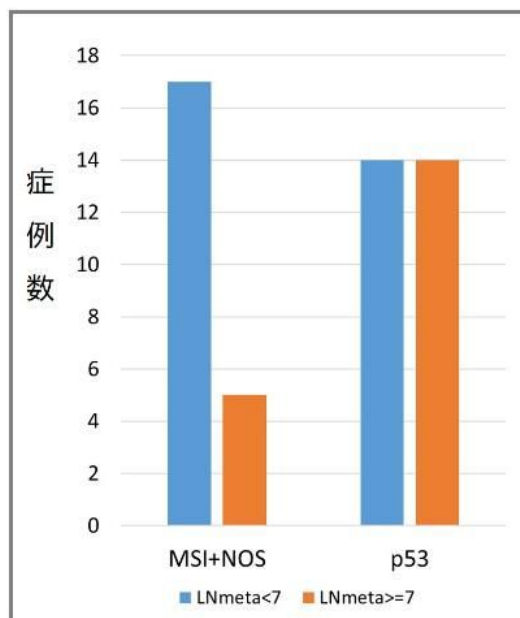


図1. 分子サブタイプとリンパ節転移の関連。リンパ節転移7個以上となる (N3以上となる) 割合が、p53異常のある症例では有意に高かった。MSI: マイクロサテライト不安定型, NOS: 分子サブタイプ不明型。

(2) 充実性増殖と SWI/SNF 複合体の関連についての検討：同一腫瘍内で充実性増殖を示す腫瘍成分と管状増殖を示す腫瘍成分の双方が評価できる組織切片を選択し、SWI/SNF 複合体の構成要素の免疫染色を施行した。その結果、管状成分と充実性成分の発現パターンに相違が認められた。管状成分では発現が保持される一方で充実性成分において発現が低下する症例が複数症例確認され、そうした現象を呈するタンパクが複数確認された (図 2)。このことから、SWI/SNF 複合体

の異常が本亜型の形態学的特徴を規定している可能性が示唆された。これは Tsuruta らの先行報告 (Cancer Sci 2020;111:1008-19) と部分的に一致する結果となった。分子サブタイプを検討すると、そうした症例は全てのサブタイプに認められた。

(3) 分子サブタイプ不明型のゲノム解析： 研究開始時点で最も着目していた分子サブタイプ不明型のゲノム異常を解明すべく、凍結保存検体のあった少数例を対象として、全エクソン解析を施行した。体細胞変異の総数は 480~5,457 個であり、極端に多かったマイクロサテライト不安定型に比べ、分子サブタイプ不明型の変異総数は少なかった。また、RNA シークエンスから発現プロファイルの特徴を解析し、一部の遺伝子については検証を行った。発現の高い遺伝子にサイトケラチンをコードするものがあつたため、対応する免疫染色をホルマリン固定切片で施行しスクリーニングを行ったが、分子サブタイプ不明型において該当サイトケラチンの発現が有意に高いという結果は得られなかった。その他には、発現の高い遺伝子群のなかに *WNT7B* や *SCL26A3* など癌関連と考えられるものが見出された。治療標的に関連する融合遺伝子の検出には難渋したが、サポートリード数の閾値を下げて再検証することが必要と考えられる。

(4) 遺伝子増幅のスクリーニング： TCGA データベース上で公開されている胃癌のゲノム異常を参照し、本亜型に比較的高頻度に見られる遺伝子増幅を抽出することができた (遺伝子増幅を有する症例の頻度は、*TP53* 体細胞変異の有無によって異なっており、18-25%)。それを受け、自施設症例でのホルマリン固定組織切片を用いた FISH 法により、該当遺伝子の増幅の有無を確認し、頻度検証を進められており、今後も継続する。

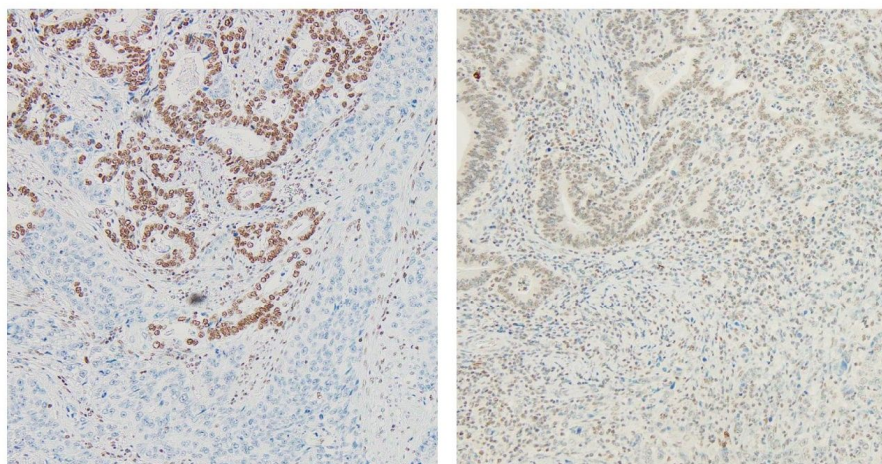


図2. SWI/SNF複合体構成要素の発現低下が充実性増殖に関連する様子。左右の写真は別症例で、それぞれ異なるタンパクの免疫染色である。写真上方の管状成分では発現が保持されるが、その他の充実性成分では発現が消失ないし低下している。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 六反 啓文, 牛久 哲男	4. 巻 55
2. 論文標題 胃：低分化腺癌, 充実型および非充実型	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 胃と腸	6. 最初と最後の頁 408-411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 六反 啓文, 牛久 哲男
2. 発表標題 胃癌早期病変のゲノム異常
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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