

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17069

研究課題名(和文) 微量検体プロテオゲノミクス解析による消化管原発神経内分泌癌の病態解明

研究課題名(英文) Investigation of the pathogenesis of gastrointestinal tract neuroendocrine carcinoma through microscaled proteogenomic analysis

研究代表者

平野 秀和 (Hirano, Hidekazu)

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医員

研究者番号：30796800

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)：治療歴のない消化管原発神経内分泌癌患者の原発巣から採取した内視鏡生検検体を用いて、ゲノムプロファイリング検査、プロテオーム解析、リン酸化プロテオーム解析を行い、消化管原発神経内分泌癌における生物学的機能の異常を探索した。プロテオーム解析、リン酸化プロテオーム解析によって、腫瘍組織では非腫瘍組織と比較して細胞周期機構およびDNA修復機構のシグナル伝達や関連キナーゼが活性化していることを明らかにした。これらの情報には、ゲノムプロファイリング検査で取得困難な情報も多く、消化管原発神経内分泌癌の疾患メカニズムの解明および新たな治療標的候補の探索におけるプロテオゲノミクス解析の重要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消化管原発神経内分泌癌は予後不良な希少がんであり、切除可能性に関わらず新規治療開発が求められている。また、その希少性から、分子学的異常に基づく治療法の確立がされておらず、アンメットニーズが高い疾患である。本研究は、消化管原発神経内分泌癌における微量生検検体によるプロテオゲノミクス解析の有用性を示すものであり、研究の蓄積による今後の臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Using endoscopic biopsy specimens collected from primary tumors of patients with untreated gastrointestinal tract neuroendocrine carcinomas (GI-NECs), genomic profiling tests, proteomic analysis, and phosphoproteomic analysis were performed to investigate abnormalities in biological functions in GI-NECs. Proteomic and phosphoproteomic analysis revealed the activation of signaling and kinases of the cell cycle and DNA repair mechanisms in tumor tissues compared with non-tumor adjacent tissues. Proteomic and phosphoproteomic analysis provided information that is difficult to be acquired by genomic profiling tests, suggesting the importance of proteogenomic analysis in elucidating the disease mechanism and exploring novel therapeutic targets in GI-NECs.

研究分野：消化管がんの薬物療法

キーワード：消化管原発神経内分泌がん プロテオゲノミクス解析

1. 研究開始当初の背景

消化管原発神経内分泌癌 (gastrointestinal neuroendocrine carcinoma: GI-NEC) は治療開発が不十分な高悪性度の希少がんである。切除不能・再発 GI-NEC の治療の主体は化学療法であるが、生存期間中央値は約 12 か月と、治療成績は不良である。切除可能な場合であっても、GI-NEC の生存期間中央値は約 20 か月と予後不良な疾患である。このような状況から、切除可能性に関わらず新規治療開発が求められている疾患である。

近年、がんゲノムプロファイリング情報に基づく個別化医療の推進が期待されているが、遺伝子異常単独の情報では、疾患メカニズムの解明や適切な治療選択が困難な現状がある。今般、質量分析計で取得可能なタンパク質およびリン酸化修飾情報が、がんの病態解明に有用であると世界的に注目されている。また、検体の前処理技術の改良によって、タンパク質含有量が少ない生検検体でも高深度のプロテオーム解析が可能になっており、遺伝子解析とプロテオーム解析を統合したプロテオゲノミクス解析に基づくがんの疾患メカニズムの解明が着目されている。しかしながら、GI-NEC はその希少性から、これまで分子学的異常の探索が十分に検討されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、治療歴のない GI-NEC 患者から内視鏡生検で採取した腫瘍組織・非腫瘍組織のプロテオゲノミクス解析によって、がんの特性を俯瞰的に理解することに挑戦する。さらに、がん治療の分子標的薬の多くはキナーゼ阻害剤であることから、生理的かつ経時的に採取可能な内視鏡検体から得られるリン酸化プロファイリング情報に基づき、GI-NEC における治療標的候補となる活性キナーゼを同定する。

3. 研究の方法

治療歴のない GI-NEC 患者 10 人 (原発部位は胃 8 人、食道 1 人、肛門管 1 人) を対象に検討を行った。内視鏡生検にて各患者の原発巣から腫瘍組織 4 個、非腫瘍組織 2 個を採取した。プロテオーム解析・リン酸化プロテオーム解析では、各患者の腫瘍組織 2 個と非腫瘍組織 2 個を使用し、液体クロマトグラフ質量分析計を用いて解析した。ゲノムプロファイリング検査では、各患者の腫瘍組織 1 個を使用し、Thermo Fisher Scientific 社の OncoPrint Comprehensive Assay Plus を用いて解析した。

プロテオーム解析・リン酸化プロテオーム解析を実施し、それぞれ 5,607 タンパク質および 19,316 リン酸化部位を同定した。プロテオーム解析データを用いて single Gene Set Enrichment Analysis (ssGSEA) を実施して、各生検検体の生物学的機能を評価した。腫瘍組織は非腫瘍組織を群間比較すると、腫瘍組織では細胞周期機構および DNA 修復機構の活性化が認められた (図 1)。

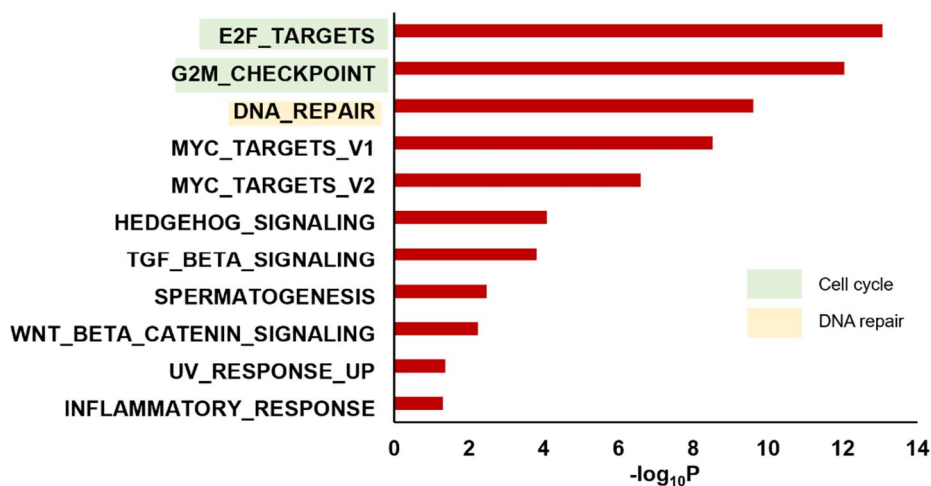


図 1: 非腫瘍組織に対して腫瘍組織で活性化した生物学的機能 (プロテオームデータによる ssGSEA 結果に基づく)

次に、リン酸化プロテオーム解析に基づくキナーゼ活性の予測手法である PTM Signature Enrichment Analysis (PTM-SEA) を用いて、各生検検体におけるキナーゼのプロファイルを推定した。腫瘍組織と非腫瘍組織を群間比較したところ、腫瘍組織では細胞周期機構および DNA 修復機構に関連するキナーゼの活性化が認められた (図 2)。

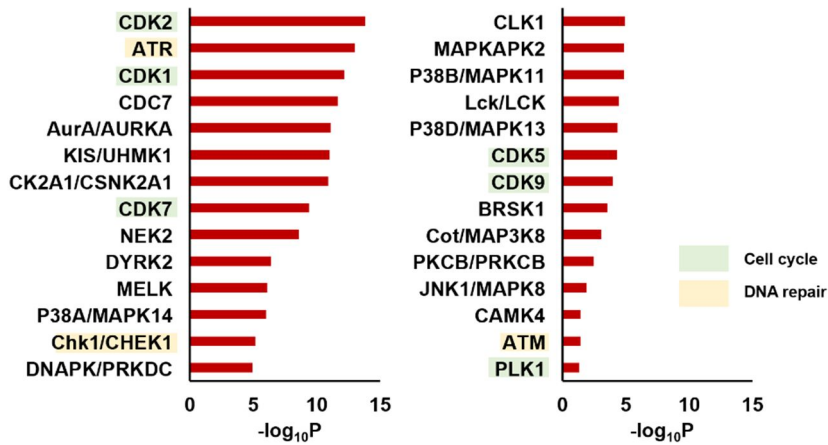


図2：非腫瘍組織に対して腫瘍組織で活性化が推定されるキナーゼ(リン酸化プロテオームデータによる PTM-SEA 結果に基づく)

ゲノムプロファイリング検査では、各腫瘍組織における遺伝子異常を同定することが可能であったが、プロテオーム・リン酸化プロテオームデータで示された細胞周期機構および DNA 修復機構の活性化に関連する遺伝子異常はほとんど同定されなかった。また、胃原発の腫瘍組織におけるゲノムプロファイリング検査では、*ERBB2* amplification が 50%の割合で認められた(図3)。しかし、プロテオーム・リン酸化プロテオームデータからは HER2 の活性化を支持するデータは得られなかった。これは、遺伝子異常と表現型の不一致を示唆する結果であった。

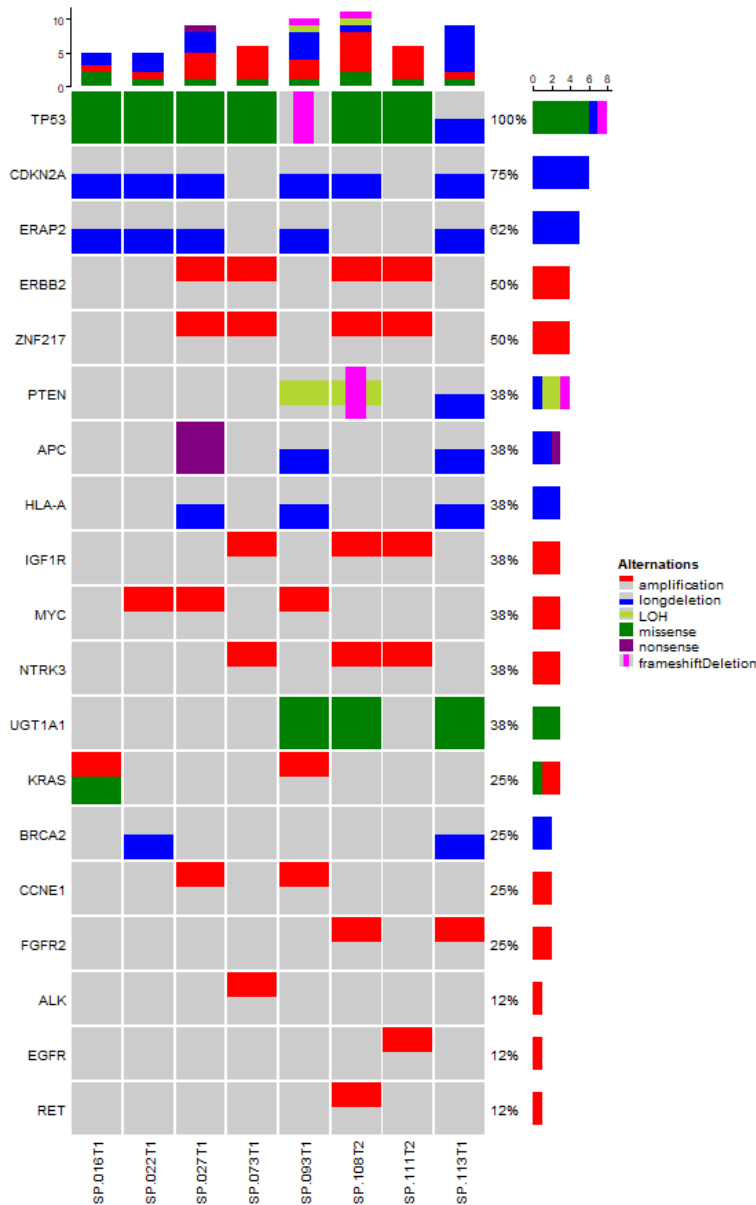


図3：胃原発 GI-NEC における遺伝子異常プロファイル

4．研究成果

GI-NEC では細胞周期機構および DNA 修復機構のシグナル伝達が活性化していることが明らかとなった。さらに、これらのシグナル伝達の活性化に関連して、CDK2 や ATR などの治療標的となり得るキナーゼが同定可能であった。これらの情報には、ゲノムプロファイリング検査では取得が困難な情報も含まれており、GI-NEC における疾患メカニズムの解明および新たな治療標的候補の探索において、プロテオゲノミクス解析の重要性を示唆するものであった。

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 Hidekazu Hirano, Yuichi Abe, Yosui Nojima, Masahiko Aoki, Hirokazu Shoji, Junko Ioyama, Kazufumi Honda, Narikazu Boku, Kenji Mizuguchi, Takeshi Tomonaga, Jun Adachi	4. 巻 12
2. 論文標題 Temporal dynamics from phosphoproteomics using endoscopic biopsy specimens provides new therapeutic targets in stage IV gastric cancer	5. 発行年 2022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/s41598-022-08430-7.	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hidekazu Hirano, Yuichi Abe, Yosui Nojima, Masahiko Aoki, Hirokazu Shoji, Junko Ioyama, Kazufumi Honda, Narikazu Boku, Kenji Mizuguchi, Takeshi Tomonaga, Jun Adachi
2. 発表標題 Temporal dynamics of phosphoproteomics using endoscopic biopsy specimens in stage IV gastric cancer
3. 学会等名 第94回日本胃癌学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 平野秀和、足立淳、阿部雄一	4. 発行年 2022年
2. 出版社 がん分子標的治療	5. 総ページ数 5
3. 書名 リン酸化プロテオーム解析の臨床応用の可能性：リン酸化シグナル伝達の網羅的解析	

〔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	足立 淳 (Adachi Jun) (20437255)	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・創薬デザイン研究センター・プロジェクトリーダー (84420)	

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