

## 高精度の分子遺伝学的評価による食道癌治療成績向上のための包括的研究

Comprehensive Molecular Genetics of Esophagus Cancer Study for Development of State-of-art Therapy

森 正樹 (Mori Masaki)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授



### 研究の概要

食道癌治療成績の向上を具現化するため、「宿主（遺伝子多型）・「疫学環境）・「腫瘍」を統合した三位一体研究を開始した。われわれは、食道癌患者1071名、また2762名のコントロールからの遺伝子多型解析、および生活習慣アンケート解析を行った。その結果、4q23 および 12q24.11-13 の 2 カ所の領域が患者およびコントロールで著しい差を認めた。同部位にはアルコール代謝酵素として重要な ADH1B と ALDH2 遺伝子が含まれていた。また、飲酒と喫煙という生活習慣はわれわれの解析によっても ESC 危険因子として認められた。遺伝要因と生活習慣要因を統合解析すると、これらの 4 要因は ESC 罹患に関与することが示された。危険因子が 1 個以下の場合と全て有する場合では ESC 罹患危険度が 146 倍上昇することがしめされた。

今年度はさらに食道癌原発巣より構築したデータベースを用いて、新規食道発癌機構の解明に取り組んでいる。特に 1) 食道癌のアレイ CGH、発現遺伝子アレイの結果についてスパコンによる統合解析を推進する。また、2) 次世代シーケンサーによるエキソーム解析により、真の重要な pathway を明らかにすることに取り組み、「蛋白-蛋白相関関係」を有し症例間あるいは遺伝子間で共起する突然変異を同定した。食道発癌および癌進展における意義について鋭意解析を進めている。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：三位一体解析、GWAS 研究、ドライバー変異、エキソーム解析

### 1. 研究開始当初の背景

食道進行癌は治療抵抗性で予後不良である。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総合的かつ俯瞰的に明らかにすることが重要である。食道癌治療成績の向上を具現化するため、平成 17 年度から基盤研究 (S) (以下、前基盤 (S) と略称) の助成を頂き、「宿主 (遺伝子多型: P)」「疫学環境 (E)」「腫瘍 (T)」を統合した三位一体研究を開始した。研究は極めて順調に進行し、期待通りの成果が得られつつある。しかし、この前基盤 (S) を開始した時点と現時点では解析精度に於いて格段の差が生じた。例えば、平成 17 年度には遺伝子多型については数十個レベルの解析を予定し実行していたが、その後の技術発展により数十万個以上の網羅的解析が可能となった。またプロテオミクス技術も格段に

進歩した。さらに臨床面でのニーズにも変化が生じ、術前化学放射線療法の効果予測の必要性が一段と高まった。そこで、前基盤 (S) に引き続き本提案を行うこととした。

### 2. 研究の目的

難治性の食道癌の治療成績向上のために、高精度の分子遺伝学的評価を実施し、PET の三位一体研究の下に具体的な医療シーズを開発する。

### 3. 研究の方法

上記 P・E・T と臨床情報 (長期予後・再発) のデータベースを基本情報として以下の解析をすすめる。

1) 食道癌のアレイ CGH、発現遺伝子アレイの結果についてスパコンによる統合解析を

推進する。

(1) ゲノム変異 (増幅・欠損) を伴い、予後再発と有意に関連する発現変異を示す転写産物を同定。

(2) 鏡視下手術の是非を決める上で重要なリンパ節転移と関連する遺伝子多型を明らかにする。

(3) 抗癌剤効果予測、あるいは有害事象予測遺伝子多型を明らかにする。

2) 次世代シーケンサーによるエキソーム解析により、真の重要な pathway を明らかにする。

#### 4. これまでの成果

われわれは食道癌患者 1071 名、また 2762 名のコントロールからの遺伝子多型解析、およびその一部から生活習慣アンケート解析を行った。具体的な対象は、高精度解析、網羅解析の視点で推進されており、既に複数の候補シーズが得られ、解析を急いでいる。知財の観点からも整備が進んでいるものとして、網羅的遺伝子多型解析において、4 番染色体 (4q23) および 12 番染色体 (12q24. 11-13) 2 カ所の領域が患者およびコントロールで著しい差を認めた。同部位には ADH1B, ALDH2 遺伝子が含まれていた。どちらもアルコール代謝酵素として重要な役割を果たしている。また同定された SNPs はアルコール代謝に関与することもすでに報告されている。また、飲酒と喫煙という生活習慣はわれわれの解析によっても ESC 危険因子として認められた。遺伝要因と生活習慣要因を統合解析すると、これらの 4 要因は ESC 罹患に関与することが示された。危険因子が 1 個以下の場合と全て有する場合では ESC 罹患危険度が 146 倍上昇することが示された。遺伝要因がない場合は、飲酒による ESC 危険度は上昇しないこと、また、一つでも遺伝要因があれば、飲酒の量依存的に ESC 危険度が上昇することが明らかとなった。喫煙はこれらの遺伝要因には関係なく ESC 危険因子であることが示された。現在までにこれら ADH1B, ALDH2 遺伝子多型を含む複数の遺伝子群のハイスループット解析を進行中であり、これらの知見は ESC ハイリスクグループの二次予防に大きく貢献できると期待される。

#### 5. 今後の計画

当初の計画通りに順調に進行しているが、将来の臨床応用を鑑みたときに特に大きな期待される現在の進捗を記す。食道発癌および癌進展に関わる因子の包括的解明 (アレイ

CGH および発現遺伝子マイクロアレイのスーパーコンピュータによる統合解析) として、われわれは食道癌症例の LMD 後の原発巣癌細胞の発現遺伝子アレイから発現遺伝子データベースにつき、Extraction of Expression Module (EEM) 法を用いて、食道癌で有意に発現が変異している遺伝子 module (gene-set) を抽出した。またアレイ CGH に対して GISTIC 解析を用いて有意な増幅・欠損領域を抽出した。これまでに複数の遺伝子群がゲノム変異を伴い発現を来す重要な食道癌関連遺伝子群であることを明らかにした。これらの癌遺伝子候補および癌抑制遺伝子候補について鋭意解析中である。癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子候補について食道癌臨床検体で検証・確認した上で、実験的に cell biology を調べ、機能や発癌および癌進展における役割を明らかにしたい。さらに、遺伝子多型および疫学因子、臨床情報との連結可能な症例であり、それらについて併せて解析したい。また環境要因とは独立した遺伝子変異自体に起因する発癌機構について解明するために、食道癌におけるドライバー変異の同定と機能解析として、食道癌癌部と非癌部の DNA を抽出し、次世代シーケンサーによるエキソーム解析を行った。その結果、癌特異的であり、各症例間あるいはシグナル経路上で共起する変異を同定した。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

##### 【論文発表 (日本語)】

- 1) [森正樹](#) 消化器癌幹細胞の臨床的意義 日医会誌 139 巻 10 号 2135-2140 2011 年
- 2) [森正樹](#) 癌と生体イメージング 特集によせて Surg Fronti 18 巻 1 号 7-8 2011 年

##### 【論文発表 (英語)】

- 1) [Miyata H., Yamasaki M., Kurokawa Y., Takiguchi S., Nakajima K., Fujiwara Y., Konishi K., Mori M., Doki Y.](#) Survival factors in patients with recurrence after curative resection of esophageal squamous cell carcinomas. Ann Surg Oncol 18(12)3353-3361 2011
- 2) [Marubashi S., Nagano H., Wada H., Kobayashi S., Eguchi H., Takeda Y., Tanemura M., Umeshita K., Doki Y., Mori M.](#) Clinical Significance of Alpha - Fetoprotein mRNA in Peripheral Blood in Liver Resection for Hepatocellular Carcinoma. Ann Surg Oncol 18(8)2200-2209 2011