

2021 年 12 月 9 日

分野：生命科学・医学系

キーワード：難治がん、希少がん、神経内分泌腫瘍、全ゲノム解析

【研究成果のポイント】

全ゲノム解析等の網羅的ゲノム解析による**消化器神経内分泌がん**の病態解明 ～世界に先駆けて**難敵ながん**の本態を解き明し、薬剤開発の推進に期待～

- ◆ 難治がんである消化器の神経内分泌がん(NEC(ネック):NeuroEndocrine Carcinoma) の発症メカニズムを網羅的ゲノム解析により徹底解明した
- ◆ 消化器 NEC は希少がんにかつ診断時には手術適応となることが極めて少ないため、研究試料の入手が難しく、これまで、そのゲノム異常はほとんど未解明であった
- ◆ 初めて明らかとなった 消化器 NEC の発症メカニズムを基に、開発中の分子標的薬のドラッグ・リポジショニングや新規創薬の推進が期待される

❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科／国立がん研究センター研究所の谷内田真一教授(がんゲノム情報学)／ゲノム医科学分野長らの研究グループは、**日米欧のサンプルを用いて全ゲノム解析※1** 等の最先端の解析を行い、難治がんである**消化器神経内分泌がん(NEC)**を対象に、その発がんメカニズムを解明しました(図1)。

NEC は、増殖速度が速く悪性度の極めて高いがんで、希少かつ難治がんです。さらに、診断時には手術適応となることが極めて少ないため、研究試料の入手が難しく、これまで、そのゲノム異常はほとんど未解明でした。

神経内分泌がんは臓器横断的に発生しますが、本研究では特に発症頻度の高い消化器の NEC を研究対象としました。また、**2019 年の消化器の WHO 分類では、NEC と神経内分泌腫瘍(NeuroEndocrine Tumor:NET(ネット))の病理像により分類されましたが、今回の網羅的ゲノム解析により、発症メカニズムに伴う遺伝子異常に差異があることを実証しました。**NEC の大きな特徴として、神経内分泌系への分化をつかさどる転写因子※2である SOX2(山中因子の一つ) や ASCL1 が高発現していました。さらに、**NEC におけるこれらの転写因子の過剰発現は、各遺伝子のプロモーター領域のメチル化※3 に起因していることを明らかにしました。**一般的にはプロモーター領域の脱メチル化により遺伝子の発現が増加することが知られていますが、それとは逆の機構であることを解明しました。

膵臓由来の NEC と胃や大腸などの非膵臓消化器由来の NEC の病理組織像は類似していますが、今回の解析からゲノム異常には類似している点と異なる点があることも明らかとなりました。加えて新たに、**膵臓由来の NEC はそのゲノム異常の違いから「Ductal-type(膵管型)」と「Acinar-type(膵房型)」に分類できることを発見しました。**これは、膵臓の NEC の起源となる細胞には複数のものが存在する可能性を示唆しています。

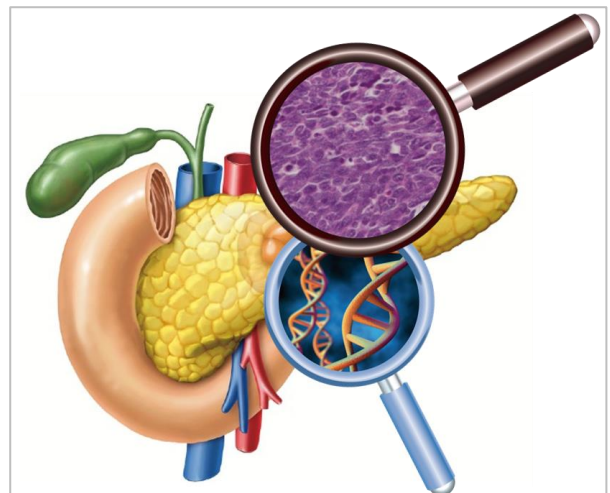


図 1:膵臓 NEC は通常の膵臓がんとは病理組織像が全く異なる。希少かつ難治性であるため、これまで未解明であった消化器の NEC について、日欧米からサンプルを入手し網羅的ゲノム解析で発症メカニズムを解明した。

Press Release

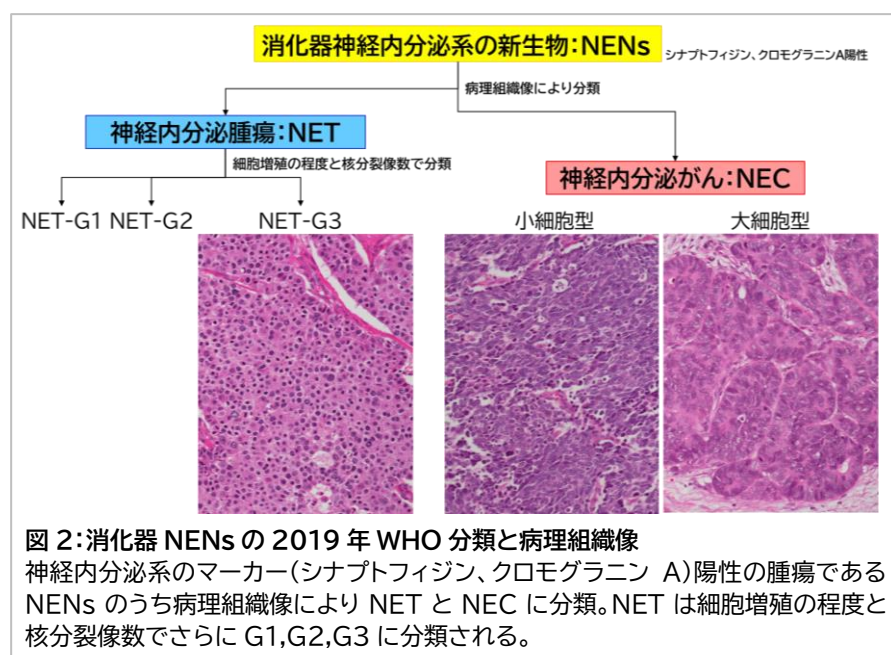
さらに、消化管 NEC の発がん要因のひとつに、ウイルス感染が関係していることも明らかとなりました(ヘルペスウイルスポロマウイルスやヒトパピローマウイルス)。

今後、今回明らかとなった消化器の NEC の発症メカニズムを基に、開発中の分子標的薬のドラッグ・リポジショニングや新規創薬が推進されることが期待されます。

本研究成果は、米国がん学会誌「Cancer Discovery, a journal of the American Association for Cancer Research(インパクトファクター:39.40)」に、12月9日(木)午前0時(日本時間)に公開されました。

❖ 研究の背景

消化器の神経内分泌系の新生物(NENs: Neuroendocrine neoplasms)は免疫組織化学染色で、神経内分泌系のマーカーであるシナプトフィジンやクロモグラニンAが陽性となる希少な疾患です。NENsは臓器横断的に発症しますが、消化器、特に膵臓が主な原発臓器です。2010年のWHO分類では、細胞増殖の程度と核分裂像数による悪性度に応じてG1、G2、G3に分類されていました。しかし、このG3の中には予後が比較的良好なものと極めて予後不良のものが混在していたため、2019年のWHO分類では、NENsをまず病理組織像により神経内分泌腫瘍(NET)と神経内分泌がん(NEC)に分類しました。さらにNETを細胞増殖の程度と核分裂像数でG1、G2、G3に分類することに修正されました(図2)。一方で、NECは病理組織像から、Small-cell type(小細胞型)とLarge-cell type(大細胞型)に分類されました。Small-cell typeは小細胞肺がん組織像に類似しています。



NET は手術で根治することからも多いことから、手術残余検体を用いた研究が進められており、これまでに MEN1 などの複数の原因遺伝子が同定されています。一方で NEC は、極めて稀で診断時に遠隔転移を認めることが多いため手術適応患者は少なく、研究試料の入手が難しいことからこれまで大規模な網羅的ゲノム解析は行われていませんでした。

NET は手術で根治することからも多いことから、手術残余検体を用いた研究が進められており、これまでに MEN1 などの複数の原因遺伝子が同定されています。一方で NEC は、極めて稀で診断時に遠隔転移を認めることが多いため手術適応患者は少なく、研究試料の入手が難しいことからこれまで大規模な網羅的ゲノム解析は行われていませんでした。

❖ 研究の内容

本研究では、消化器の NET と NEC(計 115 症例)の網羅的ゲノム解析(全ゲノム解析、全エクソーム解析、全トランスクリプトーム解析(RNA-seq)、メチル化解析と ATAC-seq 解析※4)を行った結果、その発症メカニズムが全く異なることから、両者は別の疾患であることを実証しました。

膵臓由来 NEC は「Ductal-type」と「Acinar-type」に分類でき、起源細胞が異なる可能性がある

NEC は臓器別に膵臓由来と非膵臓消化器由来に分類して解析しました。病理組織像は類似していますが、ゲノム異常は類似している点と異なる点があります。膵臓由来の NEC では TP53 と RB1 遺伝子の異常が特徴的です。さらに、膵臓由来 NEC は、「Ductal-type」と「Acinar-type」に分類できることを発見しました。前者は KRAS 遺伝子の変異を有し、膵臓の腺管細胞マーカー遺伝子(SPP1 や CFTR)の発現が上昇していま

Press Release

前者は KRAS 変異がなく、膵臓の腺房細胞マーカーの遺伝子(PTF1A)が高発現しています。「Ductal-type」の NEC と「Acinar-type」の NEC の違いは、膵臓におけるそれぞれの起源細胞が異なることに起因すると考えられます。「Ductal-type」は通常型膵臓がんにも高頻度に見られる KRAS 変異を有することから起源細胞が共通である可能性があります。通常型膵臓がんで見られる CDKN2A や SMAD4 遺伝子の異常はほとんどないことから、早い時期に通常型膵臓がんと Ductal-type NEC に方向性が分かれるのではないかと考えられます(図 3)。

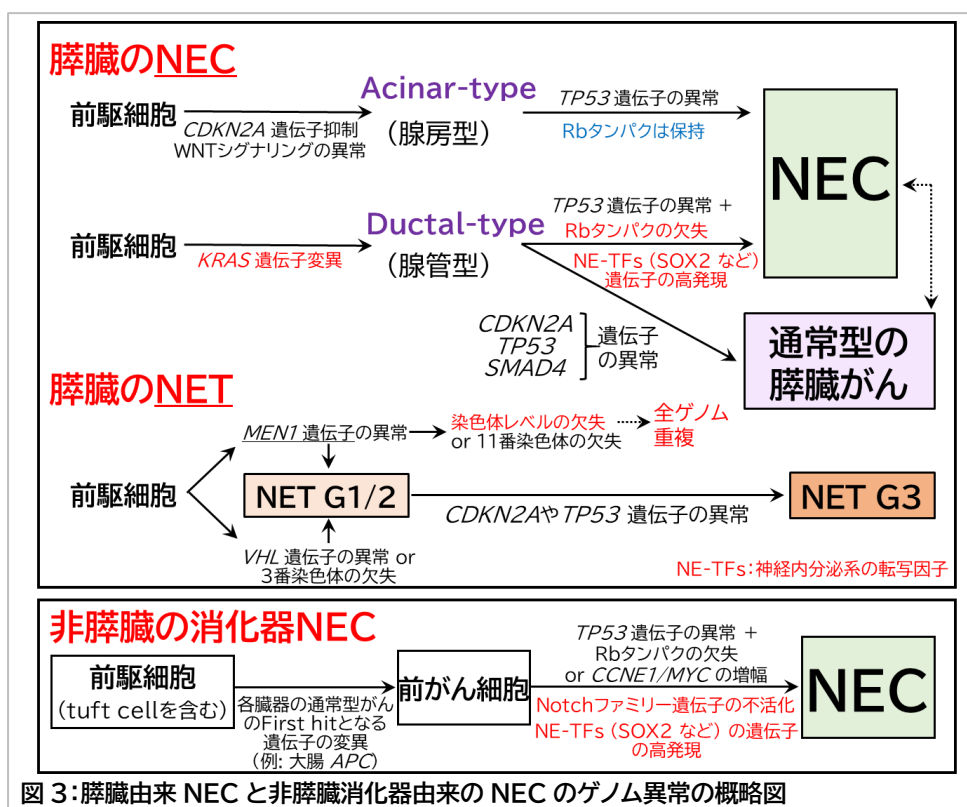


図 3: 膵臓由来 NEC と非膵臓消化器由来の NEC のゲノム異常の概略図

膵臓由来 NEC と非膵臓消化器由来 NEC のゲノム異常は異なる点がある

非膵臓消化器由来の NEC では、①TP53 と RB1 遺伝子の異常、もしくは②TP53 と CCNE1 or MYC 遺伝子の異常(①と②は相互排他的)が特徴的で、さらに構造多型^{※5}が多いことが明らかとなりました。非膵臓消化器由来の NEC では、Notch 遺伝子ファミリーの異常も特徴的に認められました。実際に、大腸粘膜由来オルガノイド^{※6}を用いて Notch シグナルの抑制が神経内分泌マーカーであるシナプトフィジン陽性細胞を誘導することを検証しました(図 4)。5 年生存率は膵臓由来の NEC が非膵臓消化器由来の NEC と比較して、有意に予後不良でした。さらに胃 NEC と大腸 NEC のそれぞれの一例は、ウイルス感染が原因となつてがん発生していることが明らかとなりました(胃 NEC:メルケル細胞ポリオーマウイルス、大腸 NEC:ヒトパピローマウイルス)。このようなウイルス発がんの場合は TP53 と RB1 遺伝子の異常はありませんでした。

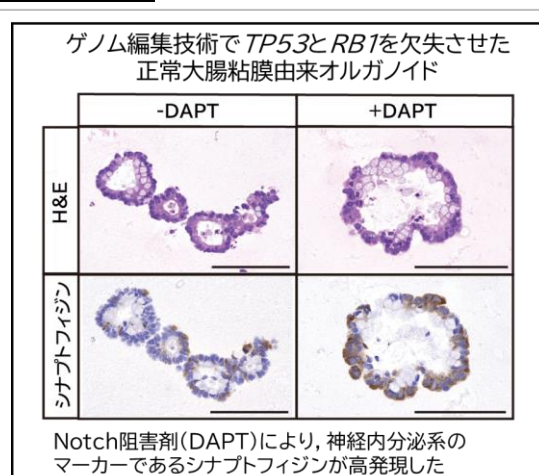


図 4: 非膵臓消化器由来の NEC では、Notch 遺伝子ファミリーの異常を特徴とすることを大腸由来オルガノイドを用いて検証

上段: H&E(ヘマトキシリン・エオジン)染色像
 下段: 茶色がシナプトフィジン陽性細胞を示す

消化器 NEC は脱メチル化ではなくメチル化により神経内分泌系の転写因子(SOX2 など)が高発現している

NEC の大きな特徴は、神経内分泌系への分化をつかさどる転写因子である SOX2 や ASCL1 が高発現していることであり、これは各遺伝子のプロモーター領域のメチル化に起因することを発見しました。一般的には、プロモーター領域の脱メチル化により遺伝子の発現が増加しますが、最近ではこのような逆の現象も報告されています。さらに ATAC-seq 解析では、SOX2 の発現が高い NEC において SOX2 周辺がオープンクロマチン構造となっている、すなわち遺伝子の転写が促進されていることを明らかにしました。

消化器 NEC から腺がんや扁平上皮がんに分化する可能性

NEC の病理組織では、通常の腺がんや扁平上皮がんも観察されることがあり、その成分が 30%以上ある場合は、MiNEN(mixed neuroendocrine-non-neuroendocrine neoplasm)と呼ばれます。これまで MiNEN の多くは腺がんや扁平上皮がんが神経内分泌系に分化して NEC になると考えられてきました。しかし本研究では、両成分のゲノム異常を比較することで、これまでの概念を覆すような NEC にさらに遺伝子異常が蓄積し、腺がんや扁平上皮がんになる可能性を示唆する所見も観察されました。

消化器 NET の発症メカニズムは NEC とは全く異なる

一方、NET は NEC とは全く別のメカニズムで発症することを実証しました。NET においては、NEC の多くで観察される RB1 遺伝子の異常はみられませんでした。遺伝子変異は NEC と比較して少数で、変異を有する主要な遺伝子は MEN1、DAXX、VHL 遺伝子です。興味深いことに、膵臓 NET の約 40%で多数の染色体レベルの欠失(染色体 1、2、3、6、8、10、11、15、16、21 と 22 番)が起こっており、これらの約 3 分の 2 の症例は MEN1 遺伝子の突然変異を有していました。また、多数の染色体で欠失が起きていた症例の約 2 分の 1 の症例では、欠失の後に全ゲノム重複^{*7} が起きていたことも分かりました(図 5)。

MEN1 遺伝子は Menin と呼ばれるタンパク質をコードしており、Menin は染色体の構造維持や DNA 修復に関与していることが知られています。これらのことから、MEN1 遺伝子変異が細胞分裂の際に染色体の分離機構を不安定にさせ、こういった現象を引き起こしたものと推察されます。

NET は細胞増殖の程度と細胞分裂像で G1、G2、G3 に分類されます。G1 や G2 から G3 へと悪性度が進む過程で、TP53 や CDKN2A などの遺伝子異常が蓄積することも解明しました。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究成果により、希少かつ難治がんである消化器 NEC の発症・進展メカニズムが全ゲノムレベルで明らかになりました。NEC は、同じ臓器由来の通常型のがん(腺がんや扁平上皮がん)とは異なるゲノム異常を有し、既存の分子標的薬等の薬剤ターゲットとなる遺伝子異常が少なく、現状では難治性のがんであることも分かりました。しかし、複雑で多様な病態を詳細に解析し、発がんメカニズムに基づいて新たなサブグループを定義づけることで、開発中の分子標的薬のドラッグ・リポジショニングや新規創薬が推進されることが期待されます。

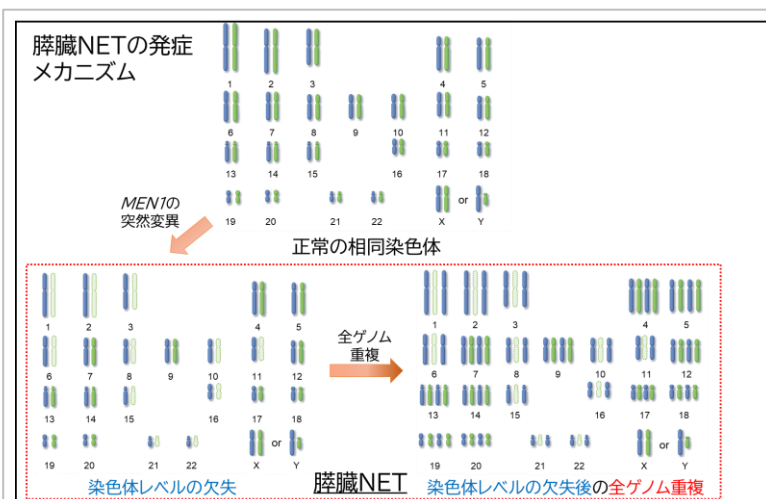


図 5:膵臓 NET の発症メカニズム

膵臓の NET において、染色体レベルの欠失や全ゲノム重複といった異常が見られた

❖ 特記事項

本研究成果は、2021 年 12 月 9 日(木)午前 0 時(日本時間)[12 月 8 日(水)午前 10 時(米国東部時間)]に米国科学誌「Cancer Discovery」(オンライン)に掲載されました。

【タイトル】“Comprehensive Genomic Profiling of Neuroendocrine Carcinomas of the Gastrointestinal System”

【著者名】Shinichi Yachida^{1,2,3*†}, Yasushi Totoki^{4†}, Michaël Noë^{5,6†}, Yoichiro Nakatani^{1†}, Masafumi Horie^{1†}, Kenta Kawasaki⁷, Hiromi Nakamura⁴, Mihoko Saito-Adachi⁴, Masami Suzuki¹, Erina Takai¹, Natsuko Hama⁴, Ryota Higuchi⁸, Seiko Hirono⁹, Satoshi Shiba⁴, Mamoru Kato¹⁰, Eisaku Furukawa¹⁰, Yasuhito Arai⁴, Hirofumi Rokutan⁴, Taiki Hashimoto¹¹, Shuichi Mitsunaga¹², Mitsuro Kanda¹³, Hidenori Tanaka¹, So Takata¹, Ayaka Shimomura¹⁴, Minoru Oshima¹⁴, Wenzel M. Hackeng¹⁵, Tomoyuki Okumura¹⁶, Keiichi Okano¹⁴, Masakazu Yamamoto⁸, Hiroki Yamaue⁹, Chigusa Morizane¹⁷, Koji Arihiro¹⁸, Toru Furukawa¹⁹, Toshiro Sato⁷, Tohru Kiyono²⁰, Lodewijk A. A. Brosens¹⁵, Laura D. Wood^{5,6}, Ralph H. Hruban^{5,6}, Tatsuhiro Shibata^{4,21}

*責任著者、†筆頭著者(同等貢献)

【所属】

1. 大阪大学大学院医学系研究科 ゲノム情報学
2. 大阪大学先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門
3. 国立がん研究センター研究所 ゲノム医科学分野
4. 国立がん研究センター研究所 ゲノミクス分野
5. Sol Goldman Pancreatic Cancer Research Center, Department of Pathology, Johns Hopkins Medical Institutions, Baltimore, Maryland, USA
6. Sol Goldman Pancreatic Cancer Research Center, Department of Oncology, Johns Hopkins Medical Institutions, Maryland, USA
7. 慶應義塾大学医学部 坂口光洋記念講座(オルガノイド医学)
8. 東京女子医科大学 消化器・一般外科
9. 和歌山県立医科大学 外科学第 2 講座
10. 国立がん研究センター研究所 生物情報学分野
11. 国立がん研究センター中央病院 病理診断科
12. 国立がん研究センター東病院 肝胆膵内科
13. 名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻 病態外科学
14. 香川大学医学部 消化器外科学
15. Department of Pathology, University Medical Center Utrecht, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands
16. 富山大学 学術研究部医学系 消化器・腫瘍・総合外科
17. 国立がん研究センター中央病院 肝胆膵内科
18. 広島大学病院 病理診断科
19. 東北大学大学院医学系研究科 病態病理学分野
20. 国立がん研究センター先端医療開発センター HPV 関連がん予防・治療プロジェクト
21. 東京大学医科学研究所 ゲノム医科学分野

DOI:10.1158/2159-8290.CD-21-0669

なお、本研究は、AMED 次世代がん医療創生研究事業(研究開発課題名:統合的ゲノム解析による消化器神経内分泌がんの本態解明)等の一環として行われました。

【谷内田真一教授のコメント】

本疾患は希少がんであることから、病気の名前も知らなかった方が多いと思います。全ゲノム解析等の網羅的解析を行うために研究試料、特に新鮮凍結サンプルの収集に苦勞し、米国やオランダからもサンプルの提供をいただきました。近年、がんゲノム医療が始まり、本疾患が「がん遺伝子パネル検査」に想定外に多く出検されています。すなわち、臨床実地において担当医が治療に難渋していることがうかがえます。本研究をさらに発展させ、本疾患の早期発見や患者さんにお薬が届けることができるような研究を進めて参ります。

❖ 用語説明

※1 全ゲノム解析

次世代シーケンサーを使って、個人(約 30 億塩基対)やがんの全ゲノム情報を解読し、塩基配列の違いや変化を同定すること。タンパク質をコードする 1~2%の範囲のエクソンだけでなく、遺伝子の発現を制御するゲノム領域の変異や様々な構造異常(大きなゲノム配列異常)も検出可能である。

※2 転写因子

遺伝子の転写(DNA の情報を RNA へと写しとる過程)を制御するタンパク質群で、DNA に特異的に結合する。転写する過程を促進、あるいは逆に抑制し、細胞分化の運命決定などに寄与する。

※3 プロモーター領域のメチル化

DNA 上には遺伝子の発現を制御する領域(プロモーター)があり、一般にこの領域がメチル化(DNA 中の塩基の炭素原子にメチル化修飾が付加される化学反応)されると遺伝子の発現はオフに、脱メチル化されるとオンになる。

※4 ATAC-seq 解析

Assay for Transposase-Accessible Chromatin Sequencing。ゲノムワイドでオープンクロマチン(ヌクレオソームのない領域)構造を選択的に検出・シーケンスすることによってゲノム全体で詳細に解析できる実験手法。

※5 構造多型

一般的には 50 塩基以上の大きさの遺伝子異常。構造多型には、異常の種類によって、欠失、挿入、重複、逆位、転座などに分類されるが、それぞれが混在した複雑なパターンを示す構造多型も存在する。

※6 オルガノイド

生体内の細胞で見られる立体的な 3 次元構造を形作るよう培養された細胞。

※7 全ゲノム重複

ゲノム全体が倍加する現象で、生物の進化の過程で見られる。近年、がんのゲノムの進化でも観察されることが明らかになっている。

Press Release

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

谷内田真一(やちだしんいち)

大阪大学 大学院医学系研究科 医学専攻 ゲノム生物学講座 がんゲノム情報学 教授

<http://www.cgi.med.osaka-u.ac.jp/>

国立がん研究センター研究所 ゲノム医科学分野 分野長

<https://www.ncc.go.jp/jp/ri/index.html>

柴田龍弘(しばたつひろ)

東京大学医科学研究所 附属ヒトゲノム解析センター ゲノム医科学分野 教授

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/hgclink/section03.html>

奥村 知之(おくむら ともゆき)

富山大学 学術研究部医学系 消化器・腫瘍・総合外科 講師

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/surg2/staff/>

廣野誠子(ひろのせいこ)

和歌山県立医科大学 医学部 外科学第2講座 講師

<https://wakayama-med-2ndsurg.jp/about/staff/>

岡野 圭一(おかの けいいち)

香川大学医学部消化器外科学 教授

https://www.med.kagawa-u.ac.jp/faculty/center/igaku_kouza/shoukaki_geka/

佐藤俊朗(さとう としろう)

慶應義塾大学医学部 坂口光洋記念講座(オルガノイド医学) 教授

<https://organoidmed.org/>

<報道に関すること>

大阪大学大学院医学系研究科 広報室

<https://www.med.osaka-u.ac.jp/>

東京大学医科学研究所 国際学術連携室(広報)

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/>

富山大学 総務部 総務課 広報・基金室

<https://www.u-toyama.ac.jp/outline/>

和歌山県立医科大学 事務局広報室

<https://www.wakayama-med.ac.jp/index.html>

香川大学医学部 総務課 広報法規・国際係

<https://www.med.kagawa-u.ac.jp/>

慶應義塾大学信濃町キャンパス 総務課

<https://www.keio.ac.jp/ja/contact/sinanomachi.html>

Press Release

国立研究開発法人国立がん研究センター 企画戦略局 広報企画室

<https://www.ncc.go.jp/jp/>

<AMED 事業に関すること>

国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)

創薬事業部 医薬品研究開発課 次世代がん医療創生研究事業(P-CREATE)

<https://www.amed.go.jp/program/list/11/01/002.html>