

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	癌の再発・転移に関与する non-coding RNA の同定とその機序解明
研究機関・部局・職名	九州大学病院別府病院・外科・教授
氏名	三森 功士

【研究目的】

本研究は、癌ゲノムの進化、癌組織の heterogeneity に注目して、癌における clonal evolution と、それによる癌の発生から転移の成立までの機構を解明するため、特に次の2点に注目し、大腸癌、胃癌を中心に解析をすすめた。

●転写産物：転移陽性大腸癌症例の原発巣または血液中において過剰発現する、lncRNA、microRNA を含めた全ての転写産物を対象に転移再発に重要な標的分子を同定する

●ゲノムレベル・エピゲノムレベル変異：エキソーム解析により、ゲノム・エピゲノム変異マッピングおよび発現転写産物プロファイルのマッピングを行い、原発巣から転移巣にいたる「進化」および「転移」の過程を明らかにして、最終的に本課題の目的である転移関与ドライバーを同定する。

大腸発癌過程において重要な癌関連多型領域より non-coding RNA の同定、機能解析さらに大腸癌原発巣におけるゲノムレベル・エピゲノムレベルにおける原発巣から転移巣にいたる「進化」の過程を明らかにして、non-coding RNA 含む転移に関与するドライバー変異候補を同定する。胃癌の腹膜播種に関連する non-coding RNA/遺伝子 経路を同定し、胃癌重要な進展形式である腹膜播種につき in vitro または in vivo レベルで癌細胞側の因子を明らかにする。

【総合評価】

<input type="checkbox"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="checkbox"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="checkbox"/>	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

当初の目的に対し、一部が達成された判断する。
本研究は「癌細胞側因子」と「宿主側因子」とを包括的にゲノムレベル、転写レベルで解析して転移再発を規定する重要な因子及びネットワーク機構を解明することを目的としている。機能が十分に判明していない microRNA や non-coding RNA を測

定し、その評価解析に次世代シーケンサーやスーパーコンピューターを駆使することにより転移に関与するドライバー変異候補や転移再発に重要な標的分子の同定を目指したものである。研究手法は国際的レベルであるが、上記の当初の主旨に関わる転移のネットワーク機構の解明に至る道筋が十分に示されていない。一方実際の担癌患者からのサンプルを用いた本研究は類似のものを見ないだけに先進的であり、またのその研究結果は大きな成果をもたらす可能性があるが、研究期間内では十分な成果を上げるには至っていない。大腸癌の解析では、原発巣には転移を成立させるドライバー遺伝子あるいはゲノム・エピゲノム変異・コピー数変異は存在しなかったが、数理的解析においても、原発巣内に癌幹細胞の存在が示唆された。3種類の胃癌細胞株（親株）の12回移植を繰り返して、4種類の腹膜播種性転移細胞株（子株）を樹立し、胃癌腹膜播種モデルマウスを作成した。エキソーム・シーケンスの結果から、non-synonymous 突然変異陽性症例(10%)の予後は野生型に比べて悪いことを明らかにしており、gain of function の変異を有することを明らかにした。

マネジメントは概ね適切である。知的財産権の出願はない。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

本研究は「癌細胞側因子」と「宿主側因子」とを包括的にゲノムレベル、転写レベルで解析して転移再発を規定する重要な因子及びネットワーク機構を解明することを目的に、未だそれら機能が十分に判明していない microRNA や non-coding RNA を測定し、その評価解析に次世代シーケンサーやスーパーコンピューターを駆使することにより転移に関与するドライバー変異候補や転移再発に重要な標的分子の同定を目指している。対象となりうる non-coding RNA は、多数存在するが、当該研究代表者はその評価指標として大腸癌・胃癌の再発・転移という病態の結果、すなわち大腸癌の肝転移と胃癌の腹膜播種の2種について検討した。【大腸癌】当初の目的は大腸癌原発巣から転移巣に至る「進化」の過程において、ゲノムレベル・エピゲノムレベルにおける数理的、包括的解析により non coding RNA 含む『転移』の機序解明と関与するドライバー候補転写産物を同定することにあつたが、10例の大腸癌症例を各々6カ所～20カ所に分割した multiregional analysis において、exome、SNP アレイ（コピー数解析）、メチル化 DNA アレイ、発現遺伝子アレイを実施したところ、転移を決定するドライバー変異は存在しないということを明らかにした。しかしながら、転移巣には原発巣に認められた founder 変異のすべて（ゲノムレベルおよびエピゲノムレベル）が含まれており、原発巣の段階で何らかの“閾値”を超えた癌細胞のみが転移巣形成能を獲得していることが推察される。

【胃癌】マウスによる in vivo モデルによる機能的な実験とヒト臨床検体との組み合わせにより、胃癌腹膜播種のメカニズム解明へとつながるいくつかの腹膜播種のドライバー候補遺伝子を明らかにしえた。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が(■ある ・ □ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が(□創出された ・ ■創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が(□ある ・ ■ない)

申請の研究が先の手法で完遂された場合には、先進性・優位性があることは確かである。既にこれまでの成果報告についても先の視点から先行的な情報提供となっている。特に大腸癌における再発ハイリスク群の絞り込みが可能となったことは評価できる。数理解析モデルによるシミュレーションなど、先進的手法を使用しているが、研究期間内では十分な解析がされていない。研究遂行の中で、原発巣細胞におけるゲノム変異またはエピゲノム変異が転移の形成に重要であることから、大腸癌、食道癌組織を対象にそれらの進化・転移機構の解析をゲノム変異から検討しており、これが当初の目的以外の成果となる可能性はあろう。

今回の研究の先進性、優位性は次のごとくである、大腸癌の肝転移の検討では1) founder mutation の中には APC, KRAS といった大腸癌の発生に重要な遺伝子が含まれていたが、特に癌幹細胞誘導因子 FBXW7 及び iPS 関連分子 SOX9 は多くの症例で(3/10)認め、大腸発癌への関与が示唆された。2) progressor 変異には TP53、PIK3CA、BRAF 等といった従来大腸癌が adenoma から進化する過程で重要といわれているような遺伝子が含まれており、これらの遺伝子が一概に(すべての症例で)発生初期から重要な役割を担っているわけではないことを明らかにした。3) 大腸癌は発生初期においてもサンプル間の多様性をもっていることを明らかにした。4) founder 変異は、本例およびこれまでに同様の解析をおこなった腎がん、膵臓癌においても、その変異頻度が年齢と相関することを明らかにした。胃癌の再発・転移の検討では、遺伝子発現アレイ、エキソームシーケンシング、CGH アレイ、マイクロ RNA 発現アレイ、メチレーションアレイについて、動物モデルによる全データと、臨床検体の全データを、スーパーコンピューターによる数理的統合解析を行った。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が(■見込まれる ・ □見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が(■見込まれる ・ □見込まれない)

研究成果の中核を成す有意義な知見として得られたものの多くは、cancer stem cell あるいは cancer precursor cell として扱えられる細胞群を対象とした研究モデルであるが、それらの分析の根幹に関わる密接な意義ある成果として扱えられる。これは今後の展開に新たな知見を提供したが、動物モデルなどで推測される機構等が実際の患者でどの程度確認できるのか興味深い。複雑な因子が関係する対象だけに困難の度合は高いが、検討する意義は大きい。

大腸癌における再発ハイリスク群の絞り込みが可能となったことは意義ある成果だが、再発群に関して現状の治療法が有効である保証はないので、この遺伝子に関連した機構を介した治療法が開発できるか否かが、直接的貢献の成否を分けると考えられる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

いずれも概ね適切に対応されたと考えられる。

指摘事項に対してはほぼ対応している。論文発表に関しては多数され、専門家および一般に対する会議発表に関しては、十分行われている。Web 上での情報発信がされている。知的財産権の出願等はない。