

## 大腸がんの統合的ゲノム・エピゲノム解析

### [1] 組織

代表者：油谷 浩幸  
(東京大学先端科学技術研究センター)  
対応者：石岡 千加史  
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：  
大内 康太 (東北大学大学院)  
高橋 信 (東北大学加齢医学研究所)  
小峰 啓吾 (東北大学病院・腫瘍内科)

研究費：物件費20万円

### [2] 研究経過

世界一の長寿国となっている日本において、がんは国民病であり、2人に1人はがんを発症し、3人に1人はがんで亡くなる時代となっている。大腸がんは罹患数で男性で第2位、女性で1位を占める疾患である。また死亡者数では第3位(2004年約40,000人)を占め、2015年にはさらに増加(約66,000人)すると予測される。大腸がんの治療成績を改善させることは、総死亡の30%を占めるがん死亡数を低下させることに大きく寄与するものと考えられる。

分子標的治療薬、とくに抗EGFR抗体薬(セツキシマブ、パニツムマブ)と抗VEGF抗体薬(ベバシズマブ)の導入により、進行・再発大腸がんの治療成績(無増悪生存期間と全生存期間)が着実に向上していることは1990年代以降の大規模臨床第III相試験の結果から明らかである。その一方で、分子標的治療薬は高額であり、従来の化学療法薬やその他のがん用いられる分子標的薬と比べて費用対効果が劣る。また、無駄な医療費となる無効患者の副作用回避の観点から、より有効な対象に選択的に治療を適応する必要がある。

本研究計画は、進行・再発結腸直腸がん(以下大腸がん)の治療感受性を予測するバイオマーカーを探索し、臨床応用のためのバイオマーカーの開発を行うことである。

これまでの貴施設・臨床腫瘍学分野の研究において、大腸がんの網羅的発現解析を行い、遺伝子発現プロファイルによって大腸がんが大きく4つのサブタイプに分類されることが示された。また、サブタイプ間で、抗EGFR抗体薬の治療効果が異なる可能性があることが示された。抗EGFR抗体薬については既にKRAS遺伝子変異が治療効果を予測するバイオマ

ーカーであることが知られているが、このサブタイプ分類はKRAS遺伝子変異よりも治療効果の予測性が高いこと可能性が示唆されている。以上の成果を臨床上有用なバイオマーカーにするための translational researchとして以下の共同研究を行う。

大腸がんのホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin Fixed Paraffin embedded: FFPE) 組織の新規コホートを使用时、

① 網羅的遺伝子発現解析によるサブタイプ分類を行い、抗EGFR抗体薬の治療効果が予測可能か検証を行う。

(加齢医学研究所にて実施)

② サブタイプ分類を規定するgeneticな変化について探索するため、次世代シーケンサーを用いた全エクソン解析を行う。

(東京大学・先端科学技術研究センターにて実施)

③ サブタイプ分類を規定するepigeneticな変化を探索するため、miRNAアレイ、メチル化アレイによる網羅的解析を行う。

(加齢医学研究所および東京大学・先端科学技術研究センターにて実施)

これらの結果を統合的に解析することにより、サブタイプ分類を規定する分子生物学的背景を明らかにする。

以下、研究活動状況の概要を記す。

① 網羅的遺伝子発現解析

新規大腸がんコホート(93例)について、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を実施した。

② 次世代シーケンサーによる全エクソン解析

FFPEサンプルから抽出したDNAを用いた全エクソン解析のプロトコルの最適化とデータ精度の検証を行い、大腸がん症例73例分の網羅的遺伝子変異データを取得した。

③ メチル化解析

Illumina社のInfinium HumanMethylation 450 Bead Chipを用いて腫瘍組織97例、正常大腸粘膜10例計107例分の網羅的メチル化データを取得した。

④ 統合解析

今後、各解析症例数を増やしつつ、バイオマーカー探索、サブタイプを規定する生物学的背景の検討を行っていく予定である。

なお、東北大学加齢医学研究所の対応者(石岡千加

史)と分担者(高橋信、小峰啓吾、大内康太)は原則月に1度進捗状況の報告と研究方針に関する打ち合わせを行っており、対応者(石岡千加史)及び分担者(大内康太)より東京大学先端科学技術研究センターにおける代表者(油谷浩幸)へ特許取得や論文作成を含めた研究方針や解析の相談及び進捗報告を行っている。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、2つの独立したコホート(第1コホート45例、第2コホート52例)を用いた網羅的メチル化解析の結果、メチル化の相対的な頻度により大腸がんが2つのサブグループに分類可能であることが明らかとなった。サブグループ間では抗EGFR抗体薬の治療成績が有意に異なることが2つの独立したコホートで示された。本研究における分類方法は、現在抗EGFR抗体薬の治療成績を予測するバイオマーカーとして確立されているKRAS遺伝子変異を含むRAS遺伝子変異とは独立して抗EGFR抗体薬の治療成績を予測できることが単変量及び多変量解析の結果から示されており、抗EGFR抗体薬の治療成績を予測する新規バイオマーカーの有効な候補であることが示唆された。本研究は東北大学、東京大学の両者を出願者として特許出願を完了している(特願2014-212503号)。

第2に、上記サブグループの決定に強く寄与しているメチル化領域の絞り込みを行った。その結果、2つの独立したコホートで共通して解析に使用されたメチル化領域(1,744個)から、特定の24個のメチル化領域に絞って解析を行うことで、解析対象97例のうち96例が正確に分類されることが示された。この結果から、前述の網羅的DNAメチル化プロファイルに基づく分類方法から、特定の領域(24個)のDNAメチル化プロファイルに基づく分類方法への移行が可能であることが示され、現在臨床応用に向けたより簡便な検出系の検討を進めている。

第3に、次世代シーケンサーによる全エクソン解析のプロトコルの最適化を行い、FFPE組織由来のDNAでも良好な塩基配列データが得られることを確認した。現在までに78例分の全エクソン解析のデータを得た。今後、遺伝子発現プロファイルによるサブタイプ分類、DNAメチル化プロファイルによるサブグループ分類及び抗EGFR抗体等の治療効果と関連する遺伝子変異を探索していく予定である。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、東京大学先端科学技術研究センターと加齢医学研究所それぞれの研究の長所を活かした研究であり、大腸がん検体を利用して、ゲノム、エピゲノムの網羅的かつ包括的な解析が可能となった。膨大なデータのため、解析には時間を要するが、治療効果を予測するバイオマーカーとして期待できる結果が主にDNAメチル化解析により得られつつある。

今後は現在申請中の特許の補強を目指し、検証データの追加やより簡便で臨床応用可能なメチル化検出方法の確立を目指して研究を進めていく予定である。また、網羅的遺伝子発現プロファイルや網羅的遺伝子変異データとの統合解析により、分子生物学的根拠に裏付けされたより頑強なバイオマーカーの開発に発展していくことが期待される。

### [4] 成果資料

論文未発表