

医療・健康

希少がん「平滑筋肉腫」の原因となる発がん因子を新たに発見 ～ トランスクリプトーム解析を用いたがん個別化医療の開発へ～

概要

順天堂大学医学部整形外科学講座の末原義之 准教授、および人体病理病態学講座の林大久生 准教授、齋藤剛 准教授らの研究グループは、国立がん研究センターとの共同研究により、希少がんである軟部肉腫*1の一種「平滑筋肉腫」に対しトランスクリプトーム解析*2を行い、チロシンキナーゼ融合遺伝子*3に属する *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子を発がん因子として同定することに成功しました。さらに、肺がんの抗がん剤として用いられるクリゾチニブ*4が平滑筋肉腫の標的治療薬になりうることを見出しました。今回の研究で軟部肉腫における新規チロシンキナーゼ融合遺伝子治療標的を明らかに出来たことで、がんゲノム医療*5時代における進行軟部肉腫の個別化医療の開発に大きく道を拓く可能性を示しました。本研究は米国の整形外科治療の科学誌「*Clinical Orthopaedics and Related Research*」オンライン版で発表されました。

本研究成果のポイント

- 希少がん軟部肉腫の平滑筋肉腫において原因となる新規のチロシンキナーゼ融合遺伝子を発見
- *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子によってがん化した細胞の増殖を肺がんの抗がん剤クリゾチニブが顕著に抑制
- がんクリニカルシーケンス検査にトランスクリプトーム解析を加えることで進行軟部肉腫の新規治療標的の発見と個別化医療の開発へ

背景

軟部肉腫は国内で年間1500名ほどに発生する悪性腫瘍で、発生頻度の低さより希少がんに分類されます。様々な年齢層に発生しますが、近年では高齢者に多く発生する傾向がみられます。治療には化学療法、外科手術、放射線治療を組み合わせた治療が行われていますが、化学療法は今のところ30年以上前より使用されてるアドリアマイシンの奏効性*6を越えるものがなく、二次治療に用いる新規薬剤(パゾパニブ、エリ布林、トラベクテジンなど)でも奏効性が低いことが課題です。また、転移症例では5年生存率が30%以下と極めて悪性度が高いものが多く、新たな治療法開発が必要とされています。昨今がんクリニカルシーケンス検査*7による希少がんの診断や治療が進んでいますが、主に用いられるDNAパネル*8では、治療に有効な標的であるチロシンキナーゼ融合遺伝子の同定率が低いことが課題でした。今回、研究グループは、患者ゲノム情報を解析するがんクリニカルシーケンス法に加えて、トランスクリプトームレベル(RNAや塩基配列の解析)で遺伝子発現の均衡状態を網羅的に解析することで新たな治療標的を明らかにし、進行軟部肉腫の新規個別化医療を開発することを目的として研究を進めました。

内容

今回、研究グループは、順天堂大学医学部附属順天堂医院及び共同研究機関で治療した24例の進行軟部肉腫（平滑筋肉腫15例、悪性末梢神経鞘腫瘍5例、高悪性粘液線維肉腫4例）の手術検体の腫瘍部におけるがんの原因となるチロシンキナーゼ遺伝子の全てに対し、トランスクリプトームレベルの遺伝子発現の不均一性を指標とした網羅的な探索を、米国で開発された遺伝子発現解析システム「NanoString nCounter[®]」を用いて行いました。その結果、新規チロシンキナーゼ融合遺伝子として発見した *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子を（1/15例(7%)の）平滑筋肉腫の発がん因子として同定することに成功しました（図1）。さらに、*MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子の癌化能を検証したところ、この融合遺伝子は肺がんで既に同定されている *CD74/ROS1* 融合遺伝子より高いことが分かりました。そこで、肺がんの抗がん剤として用いられるマルチキナーゼ阻害薬のクリゾチニブを癌化能を示した細胞株とその腫瘍を持つマウスに使用したところ、がん細胞の増殖を顕著に抑制することを見出しました（図2）。

以上の結果から、進行軟部肉腫において *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子を有する平滑筋肉腫が存在し、その融合遺伝子は強い癌化能を示すことを明らかにしました。さらに *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子によって引き起こされる発癌に対し、クリゾチニブが新規治療標的薬になりうることを発見し、網羅的なトランスクリプトームレベルでの遺伝子解析が軟部肉腫に有効な治療標的の探索に有用であることを示しました。

今後の展開

本研究により進行軟部肉腫の新規チロシンキナーゼ治療標的を明らかにできたことで、進行軟部肉腫の個別化医療の開発が進むことが期待されます。また、現在国内外のがんゲノム医療で進められているDNAパネルを用いたがんクリニカルシーケンス検査に、トランスクリプトームレベルでの遺伝子解析による補助検査を追加することで、進行軟部肉腫の新たな治療標的を発見できる臨床的な有益性が認められました。順天堂医院で2016年に導入した世界最高精度のがんクリニカルシーケンス検査（MSK-IMPACT）では、468個にのぼるがん関連遺伝子のDNAパネルによる遺伝子変化の解析とRNAパネルによるトランスクリプトームレベルでの補助的検査が可能です。今回、NanoString nCounterを用いることでトランスクリプトーム解析の有用性が確認できたため、今後はより精度の高いMSK-IMPACTを用いた臨床試験によりさらに検証を重ねることで、希少がん軟部肉腫に対して一歩進んだ個別化医療を展開していきます。

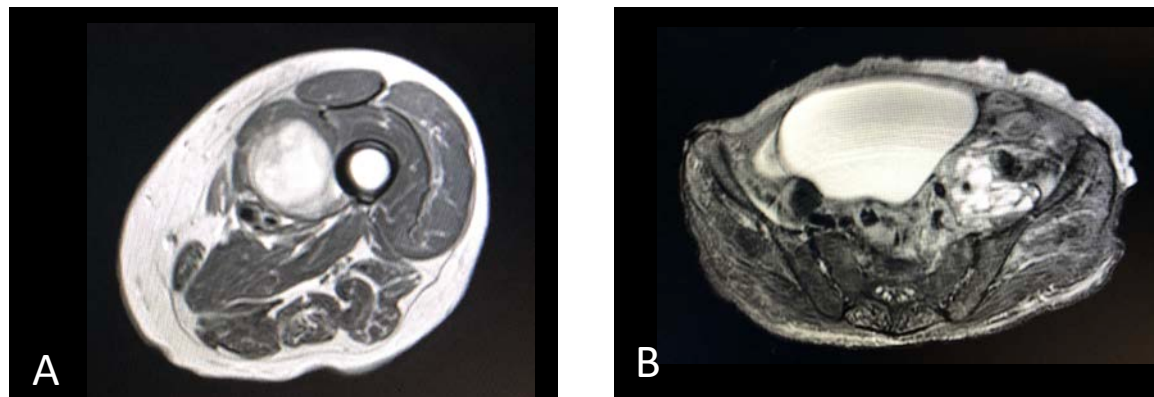


図1 トランスクリプトーム解析にて高悪性軟部肉腫の平滑筋肉腫に新規治療標的の *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子を同定

24症例の高悪性軟部肉腫に対してトランスクリプトーム(RNA)レベルで5'サイドと3'サイドの発現不均一性探索をチロシンキナーゼ遺伝子に対して網羅的に行い、NanoString nCounterを用いてその同定を進めたところ、平滑筋肉腫において *ROS1* 遺伝子にその発現不均一を同定した。検証として次世代シーケンサーと定量的PCRを行ったところ、新規チロシンキナーゼ融合遺伝子として *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子を同定することに成功した。その症例は大腿軟部腫瘍(A)であり左後腹膜転移(B)を生じた進行肉腫症例であった。

ROS1 融合遺伝子腫瘍の腫瘍径

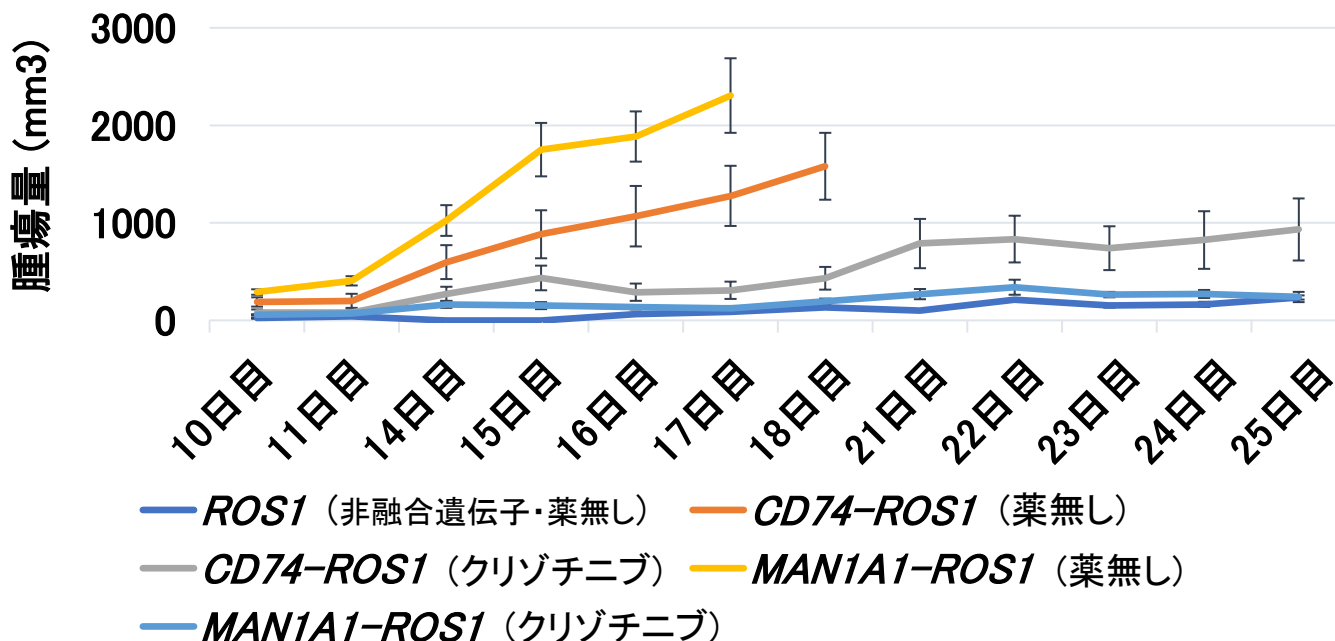


図2 *ROS1* 融合遺伝子の癌化能とマルチキナーゼ阻害薬クリゾチニブの細胞増殖抑制効果

平滑筋肉腫に同定された新規チロシンキナーゼ融合遺伝子である *MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子の癌化能を検証したところ、*MAN1A1/ROS1* 融合遺伝子は肺がんで既に同定されている *CD74/ROS1* 融合遺伝子より高い癌化能を認めた。更には *ROS1* を標的とマルチキナーゼ阻害薬のクリゾチニブ (crizotinib) をその癌化能を示した細胞株に使用したところ増殖を著明に抑制することが認められた。

用語解説

- *1. **軟部肉腫**：臓器と骨や皮膚を除く、筋肉、腱、脂肪、血管、リンパ管、関節、神経を軟部組織といい、軟部肉腫は軟部組織に発生する悪性腫瘍で、体のいろいろな部位に発生する。発生頻度が低く希少がんに分類される。軟部肉腫のひとつの組織型に平滑筋肉腫がある。
- *2. **トランスクリプトーム解析**：トランスクリプトームは特定の状況下において細胞中に存在する全てのmRNA(ないしは一次転写産物)の総体を指す呼称。トランスクリプトーム解析とはそれらmRNAの発現や塩基配列を(遺伝子)解析すること。
- *3. **チロシンキナーゼ融合遺伝子**：アミノ酸の一つであるチロシンにリン酸を付加する酵素で細胞の増殖・分化に重要な役割を持つ。遺伝子変異によってチロシンキナーゼが異常に活性化すると、細胞が異常に増殖し、癌の原因となる。チロシンキナーゼ融合遺伝子はチロシンキナーゼと他の遺伝子と融合した変異があり活性化することで癌を引き起こす。肺がんなどでは*ALK*, *ROS1*, *RET*融合遺伝子などが同定されているおり、発癌因子(driver-oncogene)とされ、それらを治療標的としたチロシンキナーゼ阻害剤は高い奏効性を示す。
- *4. **クリゾチニブ(Crizotinib)**：マルチキナーゼ阻害薬であり、*ALK*融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌や*ROS*融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌の転移治療に用いられる。
- *5. **ゲノム医療**：プレジジョン・メディシンとも呼ばれる。近年、分子標的薬が多数開発されており、検出された遺伝子変化に応じて分子標的薬を精密に選択する個別化医療。
- *6. **奏効性**：癌では化学療法や分子標的治療などで癌縮小効果などが現れること。
- *7. **がんクリニカルシーケンス検査**：がん関連遺伝子の遺伝子変化を解析し、がん患者の診断や治療に活用する検査。遺伝子に生じている遺伝子変化は患者(腫瘍)ごとに異なり、その遺伝子変化を調べることで個別化した治療(標的治療など)を行える。がんクリニカルシーケンス検査では、通常100を超えるがん関連遺伝子の変化を一度に調べることができ、難治性のがんの診断や治療に役立つ情報がないかを解析することができる。米国屈指のがん拠点施設でニューヨークにあるMemorial Sloan Ketteringがんセンターが開発したがんクリニカルシーケンス検査であるMSK-IMPACTや企業ベースのFoundationOne® CDxなどが有名である。MSK-IMPACT検査はFDAの承認を得ており、468個にのぼるがん関連遺伝子の遺伝子変化を調べることができる世界最高精度の検査。国内では順天堂大学医学部附属順天堂医院などで検査可能となっている。
- *8. **DNAパネル**：DNAパネルは一度に複数の遺伝子変異を検出する方法で、がんクリニカルシーケンス検査の現在の国内外の主流はDNAパネルとなっている。しかしながら、DNAパネルは最も治療に有効な標的であるチロシンキナーゼ融合遺伝子同定に対して、極めて同定率が低い問題点が指摘されている(Benayed R, Ladanyi M et al. Clin Cancer Res 2019)。そのためMSK-IMPACT検査は現在RNAパネルによる補助的検査を追加しているが、他の多くのがんクリニカルシーケンス検査はそれら補助検査追加は行っていない。
- *9. **NanoString nCounter**：米国 NanoString® Technologies社が開発した遺伝子発現解析システム。特殊な蛍光分子バーコードを持つ配列特異的なプローブを用いることで、最大800種類の標的配列のデジタル検出が可能。

原著論文: 本研究成果は、米国のがん治療の科学雑誌の「*Clinical Orthopaedics and Related Research*」誌のオンライン版(2020年11月12日付)で公開されました。

論文タイトル: Identification of a novel *MAN1A1-ROS* fusion gene through mRNA-based screening for tyrosine kinase gene aberrations in leiomyosarcoma.

日本語訳: チロシンキナーゼ遺伝子異常のmRNAベーススクリーニングによる新規*MAN1A1/ROS*融合遺伝子の平滑筋肉腫における同定

著者: Yoshiyuki Suehara, Shinji Kohsaka, Takuo Hayashi, Keisuke Akaike, Akio Kurisaki-Arakawa, Shingo Sato, Eisuke Kobayashi, Sho Mizuno, Toshihide Ueno, Takeshi Morii, Tomotaka Okuma, Taisei Kurihara, Nobuhiko Hasegawa, Kei Sano, Keita Sasa, Taketo Okubo, Youngji Kim, Tsuyoshi Saito, Hiroyuki Mano, Tsuyoshi Saito

著者(日本語表記): 末原義之¹, 高阪真路², 林大久生¹, 赤池慶祐¹, 栗崎愛子¹, 佐藤信吾³, 小林英介², 水野祥², 上野敏秀², 森井健司⁴, 大隈知威⁵, 栗原大聖¹, 長谷川延彦¹, 佐野圭¹, 佐々慶太¹, 大久保武人¹, 金栄智¹, 間野博行², 齋藤剛¹

所属機関: 1. 順天堂大学医学部、2. 国立がん研究センター研究所、3. 東京医科歯科大学、4. 杏林大学、5. 都立駒込病院

DOI: 10.1097/CORR.0000000000001548

なお本研究は、国立がん研究センターとの共同研究として、JSPS科研費 JP19H03789, 19K22694, JP15KK0353, JP19K16753, JP18K15329, JP18K16634、日本医療研究開発機構 JP18am0001009, JP18ck0106252による支援を受けて行われました。ご協力いただきました皆様に深謝いたします。

< 研究内容に関するお問い合わせ先 >

順天堂大学医学部 整形外科科学講座
順天堂大学医学部附属順天堂医院 整形外科
准教授 末原 義之 (すえはら よしゆき)
TEL: 03-3813-3111 (大代表)
FAX: 03-3813-3428
E-mail: ysuehara@juntendo.ac.jp
<http://www.juntendo.ac.jp/hospital/clinic/seikei/>

< 取材に関するお問い合わせ先 >

順天堂大学 総務部 文書・広報課
担当: 長嶋 文乃 (ながしま あやの)
TEL: 03-5802-1006
FAX: 03-3814-9100
E-mail: pr@juntendo.ac.jp
<https://www.juntendo.ac.jp>

< 順天堂医院へのお問い合わせ先 >

順天堂大学医学部附属順天堂医院
TEL: 03-3813-3111(大代表)
FAX: 03-5802-1144
E-mail: paffairs@juntendo.ac.jp
<https://www.juntendo.ac.jp/hospital/>

