

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「分子プロファイリングによる新規標的の同定を通じた難治がん治療法開発」  
(同一胃癌症例の原発組織、非癌部粘膜、血液、腹水を用いた胃癌の治療・再発についての研究)
2. 研究開発代表者： 公立大学法人横浜市立大学 外科治療学 准教授 利野 靖
3. 研究開発の成果：

## ①標本の管理

各標本において、病理組織学データと共に、臨床データを調査して、データベースを整備した。各標本はディープフリーザーで保存されており、保存状態も確認した。

## ②胃がん組織を用いたバイオマーカーの検索と新規治療ターゲットの検索

次世代がん研究支援基盤組織では、126例(252検体)がん部と非がん部(正常粘膜)の全エクソーム解析(進行状況に応じてRNA-seqを追加)を実施した。その結果、TCGA基準に沿って11.4mutations/Mb以上に変異が認められるものをhypermutated症例とすると約30%が該当した。予後に関して有意差は出ていないが、症例を再確認し再検討していく予定である。Somatic mutation解析では、代表的なものでTP53 61.4%、CDH1 12.9%に変異を認めた。mRNA expression clusteringでは大きく2群に別れ、ひとつはLauren分類のIntestinal typeを多く含み、もうひとつはDiffuse typeを多く含む群に別れた。胃癌はその成り立ちからIntestinal type, Diffuse typeに別れていると考えられ、サブグループごとの予後解析も必要であると考えられる。

## ③胃がんゲノム解析データを使用した二次解析に関する整備

横浜市立大学の解析によって得られたエクソーム解析データあるいはトランスクリプトーム解析データのゲノムデータベースに関して、機関研究者らがこれまでに取得してきた同様のがんゲノムデータの解析基盤を基礎として、胃がん組織における遺伝子変異情報の抽出パイプラインを整備し、横浜市立大学と連携を取りながら実際に解析を行った。さらに、公共のゲノム・アノテーション・データベースを用いたシグナル・パスウェイ解析についての情報整備、及び微生物ゲノム情報を用いたメタゲノム解析基盤を整備した。メタゲノム解析については、実際にヒト胃癌試料を用いたゲノムデータから胃組織及び胃癌組織中に存在した微生物を同定する手法を樹立した。

## ④個別的な治療標的遺伝子に関する機能的検証の検討

ゲノミクス解析によって探索された治療標的分子の候補に関して、その治療標的としての有用性あるいは応用性を検討する機能的検証について実験プロトコルを樹立し、実際に検証を進めた。具体的には、平成26年度内に樹立された細胞増殖自動計測装置を用いたスクリーニング系によって、候補遺伝子について個別的にノックダウンさせたヒト胃癌細胞株の増殖について機能的スクリーニングを行った。その結果、発現抑制に伴って細胞増殖能の顕著な抑制を呈した候補遺伝子が複数同定された。

胃癌試料のエクソーム解析によって、びまん性胃がん特異的に高頻度なRHOA変異が存在することが確認された。

RHOA変異を有するびまん性胃がんを対象に詳細な臨床病理学的解析を実施したところ、以下の結果が明らかとなった。①免疫組織化学的検討ではRHOA変異胃癌の粘液形質は、胃型(45%)、胃腸混合型(36%)が大部分を占め、RHOA野生型胃がんと同様の結果であった。②予後解析ではRHOA変異単独では有意な予後因子とならなかったが、RHOA変異胃がんの中にはPulmonary tumor thrombotic microangiopathyを合併した早期がん例や、著明ながん性リンパ管を生じた例など、特徴的な臨床像を呈した症例が含まれていた。これらの解析結果をGastric Cancer誌に発表した(PMID: 25823974)。RHOA変異胃癌の特徴をより明らかにするため、FFPE試料を用いたデジタルPCR法及び多数症例の胃癌組織からなるTissue Microarrayを用いて臨床病理学的検討を行ったところ、胃癌試料におけるRHOA遺伝子変異の存在が再確認された。