

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名 : (日本語) 胃癌における癌細胞と免疫細胞の統合ゲノミクス  
(英語) Integrated genomics for cancer and immune cells in gastric carcinoma
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学 教授 石川俊平  
所属 役職 氏名 : (英語) Tokyo Medical and Dental University, Professor, Shumpei Ishikawa
- 実施期間 : 平成 28 年 9 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

平成28年度は以下3項目の研究開発を進めた。

#### ① 凍結保存試料を用いた胃癌浸潤リンパ球の包括的免疫ゲノム解析

リンパ球抗原受容体の完全長次世代シーケンス・プロトコールによって、多数のびまん性胃癌臨床検体における腫瘍特異的免疫受容体配列の取得を目的として研究開発を実施した。Druggableなドライバー遺伝子変異及び既知のNeoantigenが少ないスキルス胃癌(びまん性胃癌)症例を中心として、エクソーム、トランスクリプトーム、メタゲノム解析との比較を行うため先行研究でこれらのデータが得られたものを優先して症例の選択を進めた。解析対象症例の選択及び凍結標本の収集と核酸抽出については完了している。それらの症例に対して、凍結ブロックとしてアーカイブされたびまん性胃癌臨床検体の癌環境中に浸潤するB細胞(重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子)およびT細胞( $\alpha/\beta$ 遺伝子及び $\gamma/\delta$ 遺伝子)の抗原受容体次世代シーケンスを一部実施し、びまん性胃癌環境における免疫ゲノム・プロファイルを取得した。同一症例の非腫瘍部粘膜をコントロールとして、びまん性胃癌に特異的浸潤を呈する抗原受容体配列を一部で取得した。

#### ② 病理組織学的所見を基盤とした免疫ゲノム解析

リンパ球クローンの腫瘍内の局在に焦点をあて、抗腫瘍活性と密接に関連する部位(腫瘍部濾胞胚中心など)のリンパ球をマイクロダイセクションで個別に分離して免疫ゲノムのプロファイルを行うことにより、抗腫瘍活性をもつリンパ球の詳細な性状の解析を行うことを目的とする。平成28年度では、特に腫瘍内リンパ濾胞・胚中心等の形成が顕著な症例の選択および、免疫ゲノム解析によって浸潤B細胞免疫グロブリンのSomatic Hypermutationが目立つ症例の選択を進めた。また、凍結標本あるいはホルマリン固定標本からレーザーマイクロダイセクションによって細胞を採取するプロトコールの樹立及び採取した細胞のゲノムDNAを鋳型とする抗原受容体次世代シーケンスの実験プロトコールの樹立を進めた。対象症例の選択が完了し、パイロット実験を複数の臨床試料に対して実施した。

#### ③ 免疫ゲノムデータに対する機械学習アルゴリズムの開発

独自の機械学習アルゴリズムの開発に基づいて、びまん性胃癌臨床検体から取得された免疫ゲノムシーケンスを基盤として、腫瘍特異的免疫グロブリン配列および腫瘍抗原の特性等のグローバル・プロファイルの症例差を捉え、それらを臨床病理学的因子と比較検討することを目的とする。平成28年度では、パイロット解析によって得られた免疫グロブリンシーケンス情報を利用することによって、機械学習法の開発を進めた。癌部と非癌部あるいは胃と他臓器などの識別アルゴリズムのプロトタイプが構築された。

In the FY2016, we promoted researches focusing on the following 3 plans.

① Global Immunogenetic Profiling for Diffuse-type Gastric Cancer

The aim of this research plan is to obtain the global profiles of antigen receptor sequences including B-cell receptor (immunoglobulin) and T-cell receptor repertoires by using our next-generation sequencing strategy, focusing on diffuse-type gastric cancers (DGC). We are focusing on DGCs since this type of gastric cancers substantially lack druggable driver mutations and known neo-antigens. We selected DGC sample cohort for which the exome, transcriptome and meta-genome data are already acquired in previous researches. The selection of the sample cohort, the collection of frozen archives of such DGC cases and extraction of total RNA and genomic DNA of the samples were completed. For some of the DGC cases, next-generation sequencing of BCR and TCR genes for tumor-infiltrating B and T cells were conducted, and such immunogenetic profiling for normal counterpart tissues were also performed. By comparing the immunogenetic profiles of DGC and normal gastric tissues, tumor-specific and dominant BCR (immunoglobulin) repertoires were successfully obtained.

② Immunogenetic Profiling based on Histopathological Examination

By focusing on the localization patterns of tumor-specific B-cell clones within DGCs, precise biological significances of the tumor-specific B-cells will be clarified. We selected a DGC sample cohort which were characteristic for the development of tissue germinal centers and lymphoid follicles (tertiary lymphoid structure) within tumor environments. We also included DGC cases which harbored higher numbers of somatic hypermutations in tumor-infiltrating dominant B-cells as clarified by our pilot analysis. Experiment protocols for laser-captured microdissection for frozen and formalin-fixed specimens were established, and the PCR amplification method targeting BCR (immunoglobulin) genes using small fractions of dissected cells were also investigated. The selection of the DGC cohort for this research plan was completed and a part of pilot experiments were conducted for multiple samples.

③ Development of Machine Learning Algorithm for Immunogenetic Database

By utilizing global immunogenetic sequencing data obtained by the pilot experiments as described above, we promoted the development of our original machine learning algorithm. A prototype of the machine learning algorithm to distinguish immunogenetic profiles of DGCs and normal gastric mucosa, and gastric tissues and other organs were constructed successfully.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 0 件）

1. 石川俊平. 大規模がんゲノミクスデータの再解析による免疫微小環境解析. 実験医学. 2017 Vol.35 No.4 557-561.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Prediction of Antigen-Specific Immunoglobulins from Amino Acid Sequences using Semi-Supervised Deep Learning. ポスター. Hiroki Konishi, Daisuke Komura, Hiroto Katoh, Ken Tominaga, Ryohei Suzuki, Shumpei Ishikawa. 15th European Conference on Computational Biology. Hague, Netherlands, 2016 年 9 月 3 日, 国外
2. Immunogenetic Characterization of Tumor Infiltrating TCR Repertoire in the Gastric Carcinoma Environments Using Archived Histopathological Specimens. ポスター. Hiroto Katoh, Daisuke Komura, Hiroki Konishi, Ryohei Suzuki, Asami Yamamoto, Reiko Sato, Masashi Fukayama, Hiroyuki Aburatani, Shumpei Ishikawa. AIRR 2016 Community Meeting. Rockville, MD, USA. 2016 年 6 月 27 日, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし

(4) 特許出願  
該当なし