

# 全エクソンシーケンスによる 直腸癌術前放射線化学療法効果予測遺伝子の同定

がん研有明病院 大腸外科  
副医長 秋吉 高志

(共同研究者)

公益財団法人 がん研究会がん研究所 がんゲノム研究部 主任研究員 森 誠一

## はじめに

下部進行直腸癌は、①局所再発が多いこと（10-15%）、②再発率（遠隔・局所）が結腸癌より高いこと、③局所再発を低下させるために術前放射線化学療法（CRT）が標準的に行われること、④排便障害・性機能障害など術後の生活の質（QOL）の低下が大きいこと、などの際立った臨床的特徴を有する。術前CRTの効果は様々であるが、特に著効（complete response, CR：約10～15%）症例は良好な長期成績を示すことが報告されており、最近では術前CRTにより臨床的CRが得られた症例に対し、手術を回避し経過観察を行うことで肛門機能が完全に温存されることが報告されるようになってきた。しかし、画像診断上腫瘍が消失する、臨床的CRに対し経過観察を行うと約30%に再発をきたす。このことは、病理学的CRをより高精度に予測する新たなバイオマーカーの同定が喫緊の課題であることを示している。

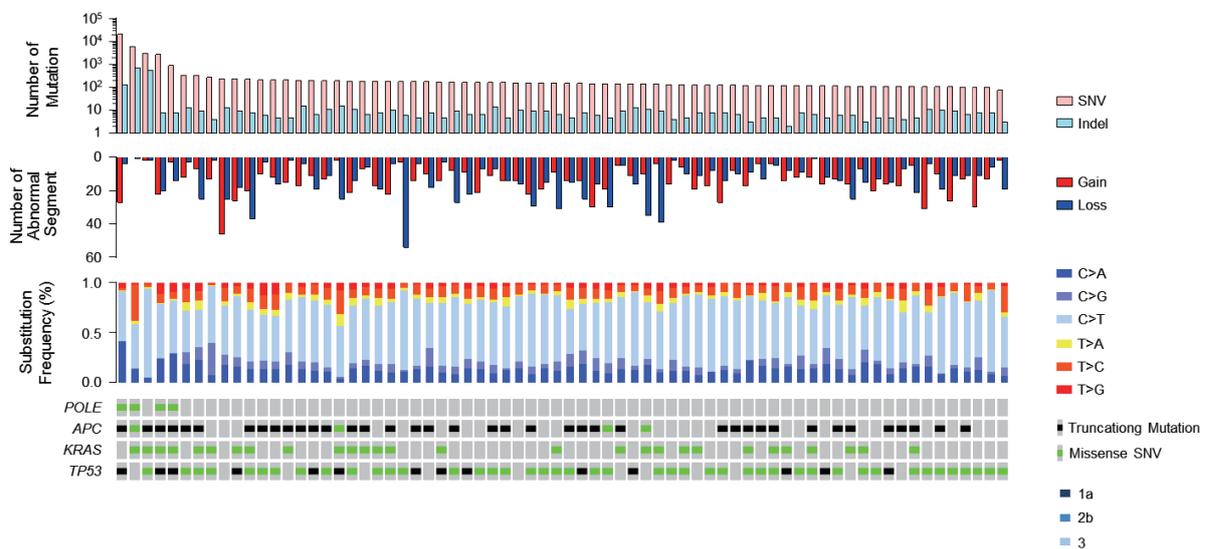
近年、The Cancer Genome Atlas (TCGA) project により、大腸癌における全エクソンシーケンス、ゲノムコピー数異常、microRNA/mRNA 発現等の統合的解析の結果が報告された<sup>1</sup>。また、全エクソンシーケンス解析の結果を基に、大腸癌の予後を予測する遺伝子変異セット（5-gene-signature）が報告された<sup>2</sup>。しかしながら、進行直腸癌における術前CRT の治療効果や長期予後と相関する遺伝子変異については報告がない。本研究では、次世代シーケンサー（HiSeq2000）を用いてゲノムの約1～2%を占めるエクソン領域を対象とした全エクソンシーケンスを行い、直腸癌の治療効果・再発を予測するためのバイオマーカーならびに治療抵抗性を克服する分子標的療法を開発することを目的とする。

## 結 果

2013年4月より“microRNA/mRNA網羅的発現解析及び全エクソンシーケンス解析に基づく直腸癌術前放射線化学療法効果予測法の開発”と題した研究プロジェクトをIRB及びヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査の承認の下がん研有明病院にて開始した。2004年から2013年までに当院で術前CRT後に手術を施行した症例（Stage II/III）のうち、術前内視鏡生検サ

ンプルが凍結保存されている症例を対象とした。術前CRTの効果の組織学的評価として大腸癌取り扱い規約のGrade分類を用い、効果良好群をGrade 3 (=CR) 及びGrade 2b (癌細胞1腺管のみ遺残) とした。効果良好群と効果不良群で有意差のあるゲノム異常をより効果的に抽出するため、効果不良群として、Grade 1a (癌の1/3未満で変性・壊死) 症例を用い、Grade1b (癌の1/3以上2/3未満で変性・壊死) およびGrade2a (癌の2/3以上で変性・壊死) は本研究の解析対象から除外した。術前CRT施行前に内視鏡で採取した凍結生検癌組織より laser capture microdissectionにより凍結組織中の癌細胞のみを切り出し、DNAの抽出を行った。対照組織として正常大腸粘膜あるいは血液を用いた。

解析可能なDNAが抽出できた70例 (Grade3: 23例、Grade2b: 15例、Grade1a: 32例) について、全エクソンシーケンス解析を行った (下図)。現在詳細な情報解析を行っているところである。



## 考 察

本研究のように多数例の術前CRT施行前の生検組織を用いて全エクソンシーケンスを行った研究は報告がない。術前CRTは進行直腸癌に対する標準治療として世界中で広く施行されており、本研究の結果のインパクトは非常に大きいと考えられる。今後さらに情報解析を進めていきたい。

## 要 約

2013年4月より“microRNA/mRNA網羅的発現解析及び全エクソンシーケンス解析に基づく直腸癌術前放射線化学療法効果予測法の開発”と題した研究プロジェクトをIRB及びヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査の承認の下開始した。2004年から2013年までに当院で術前放

射線化学療法 (CRT) 後に手術を施行した症例 (StageII/III) のうち、術前内視鏡凍結生検組織を用いて、laser capture microdissectionにより凍結組織中の癌細胞よりDNAの抽出を行い、70例について全エクソンシーケンス解析を行った。

## 文 献

1. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012 487 (7407) :330-7.
2. Yu J et al. Novel recurrently mutated genes and a prognostic mutation signature in colorectal cancer. *Gut*. 2015 64 (4) :636-45.