



Title	大腸癌根治切除後の異時性遠隔転移再発に関わる因子に関する基礎的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	沢田, 堯史
Description	配架番号 : 2873
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16149号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93545
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SAWADA_Akifumi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 沢田 堯史

学 位 論 文 題 名

大腸癌根治切除後の異時性遠隔転移再発に関わる因子に関する基礎的研究
(Studies on factors associated with metachronous distant recurrence
after curative resection of colorectal cancer)

【背景と目的】

大腸癌（colorectal cancer, CRC）は、近年急増してきており、全癌腫の中でも罹患数、死亡数ともに上位である。治療の第一選択は外科的切除であるが、周術期管理や手術治療・放射線療法の進歩、また新たな化学療法・分子標的薬の登場で、CRC の治療成績は向上傾向にあり、2017 年の報告では R0 切除を施行した StageI-III の CRC 患者の 5 年生存率は 60%以上である（Petrelli et al, 2017）。しかし、根治切除を受けたとしても術後 5 年以内に約 30%の症例が遠隔転移再発を起こし（Osterman et al, 2020）、転移再発症例の 5 年生存率は 20%未満である（DeSantis et al, 2014）。よって、今後のさらなる治療成績向上のためには遠隔転移の制御は不可欠であり、遠隔転移の可能性が高い症例を予測するバイオマーカーの確立は実臨床において非常に重要である。

発癌プロセスにおける多段階発癌説では、転移能を有するクローンは病期が進行した後期に発現し、その転移能を有する癌細胞の一部が全身に播種されるというモデルが考えられている（Jones et al, 2008; Yachida et al, 2010）。一方、進行癌のみならず腫瘍形成の初期段階でも転移能を有するクローンが存在することや腫瘍播種が起こることが報告され、新たな腫瘍転移モデルとして提唱されている（Eyles et al, 2010; Hu et al, 2019; Rhim et al, 2012; Sanger et al, 2011）。したがって、癌に対する長期的な治療戦略を組み立てるうえで、各腫瘍の分子プロファイルを解析し、それに基づいて治療方針を決定することが重要となってくるが、CRC の遠隔転移に関与する因子とその詳細は未解明な部分が多い。本研究では、予後予測や治療ターゲットとなり得る、CRC 根治切除後の異時性遠隔転移再発に関わる新規の候補因子の同定を目的とした。

【対象と方法】

2008 年 4 月から 2017 年 3 月までに当院で根治切除を施行した CRC 症例を対象とした。進行癌よりもパッセンジャー遺伝子の蓄積が少ないと考えられる pStageI-II の早期症例に絞り、cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。そこで同定された候補遺伝子に対して、組織マイクロアレイ（tissue microarray, TMA）を用いた免疫組織化学染色（immunohistochemistry, IHC）による蛋白発現解析を行い、臨床病理学的因子との関係を解析した。IHC の評価は H スコアを用いて評価した（Choueiri et al, 2015）。加えて、公共データベースより取得した CRC のトランスクリプトームデータを解析することで、我々の実験結果との整合性について検証した。

【結果】

228 例を解析の対象とした。そのうち、異時性に遠隔転移再発を来したのは 31 例（StageI: 2 例、StageII: 9 例、StageIII: 20 例）であった。異時性遠隔転移を有する StageI-II 症例 4 例を M(+)群、再発のない StageI-

II症例 4 例を M(-)群、M(+)群の癌部に隣接する正常大腸組織を NC 群として比較解析を行った。M(+)群と M(-)群の比較では、11 個の発現変動遺伝子 (different expression gene, DEG) が同定された。そのうち M(-)群と NC 群間の DEG と重複せず、M(+)群で発現が上昇していたものは *TACSTD2* (*TROP2*)、*VWCE*、*BMP7* の 3 遺伝子であった。また、各群間の DEG についてエンリッチメント解析を行ったところ、M(+)群において特徴的に細胞外マトリックスや細胞接着に関連する遺伝子セットを上位に認め、遠隔転移の分子生物学的プロセスとの関連性が示唆された。TMA を用いた IHC では、*TROP2*、*VWCE*、*BMP7* はいずれも隣接する正常大腸組織よりも癌部で有意に高発現であった。生存期間解析では、*TROP2* および *VWCE* の高発現群において、全生存期間 (OS) および無再発生存期間 (RFS) が有意に不良であった (*TROP2* : $P = 0.01$ および $P = 0.03$ 、*VWCE* : それぞれ $P < 0.05$ および $P < 0.001$)。 *BMP7* 高発現群では、有意に RFS が不良であった ($P = 0.02$)。多変量解析では、*VWCE* と *BMP7* の高発現は独立した再発予測因子であった (*VWCE* : ハザード比 (hazard ratio, HR) = 3.41、 $P < 0.001$ 、*BMP7* : HR = 2.93、 $P = 0.005$)。対照的に、*TROP2* は OS の独立した予後不良因子であった (HR = 4.58、 $P = 0.03$)。公共データベースを用いた解析では、TCGA-COAD のデータからは、大腸癌組織における *TACSTD2*、*VWCE* の高発現群では RFS が有意に低いことが分かった。また、遠隔転移のある症例で *TACSTD2* と *VWCE* が有意に高発現であった。さらに、Gene Expression Omnibus から取得した、結腸癌とその肝転移巣のトランスクリプトーム解析を行ったデータ (GSE50760) の解析の結果、*TACSTD2*、*VWCE*、*BMP7* は正常結腸に比し原発巣で、原発巣に比し肝転移巣で発現が増加していた。

【考察】

本研究は、CRC 根治切除後の異時性遠隔転移に関わる因子として、*TROP2*、*VWCE*、*BMP7* の 3 因子が関与していることを同定し、各因子の高発現群の RFS、OS が不良であることを示した。さらに、TCGA と GEO の公開データ解析においても本研究と一致する結果が得られ、*TROP2*、*VWCE*、*BMP7* が大腸癌の遠隔転移に関与する有望な候補因子であると考えられた。また、本研究は遺伝子発現解析とタンパク発現解析を用いて CRC と *VWCE* の関連性を解析した初めての報告である。

CRC における *TROP2* 高発現は肝転移や癌関連死と有意に関連し予後不良とする報告があり、本研究でも同様の結果が得られた。*TROP2* 高発現は、*in vivo* で ERK-MAPK 経路を活性化することにより、増殖、遊走、転移能を促進することも報告されており、CRC の病勢増悪および転移の促進に寄与していると考えられる (Cubas et al, 2010; Zhao et al, 2018)。本研究では、RFS に関する多変量解析で *TROP2* が独立した再発予測因子とはならなかったが、これは *TROP2* が進行した壁深達度およびリンパ節転移と関連しているためと考えられた。

VWCE は β -catenin シグナル伝達経路を介しているとされ、低酸素が *VWCE* の発現を誘導し、E-cadherin の発現抑制と β -catenin/TCF 経路の活性化をもたらし、それによって上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) が誘導されることが示されている (Du et al, 2010)。がんの微小環境において同様の低酸素状態が存在することを考慮すると、CRC においても *VWCE* が EMT を促進している可能性がある。

BMP7 に関しては、その高発現が免疫療法に対する抵抗性の一因である可能性を示唆する報告 (Cortez et al, 2020) や、EMT 関連遺伝子を抑制し、間葉-上皮移行 (mesenchymal-epithelial transition, MET) を促進することが示されている (Na et al, 2009)。これらの報告から、*BMP7* は、遠隔転移臓器での腫瘍細胞の定着と増殖に関与している可能性が示唆される。

【結論】

CRC において、*TROP2*、*VWCE*、*BMP7* の高発現は根治切除後の異時性遠隔転移再発に関与していた。これら 3 因子は CRC の予後予測マーカーや治療標的分子となる可能性が示唆された。