

領域融合レビュー, 5, e003 (2016)
DOI: 10.7875/leading.author.5.e003
2016年2月19日 公開

腫瘍内不均一性とがんの進化

Intratumor heterogeneity and cancer evolution

新井田厚司¹・三森功士²・宮野 悟¹

Atsushi Niida, Koshi Mimori & Satoru Miyano

¹ 東京大学医科学研究所 ヘルスインテリジェンスセンター健康医療計算科学分野

² 九州大学病院別府病院 外科

要約

長年、がんは直線的なクローン進化をへて形成される悪性度の高いクローナルな細胞の集団としてとらえられてきた。しかしながら、近年、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析により、ひとつの腫瘍のなかにも多数のサブクローンの存在することが明らかにされている。さらに、がんの進化のシミュレーションなどにより、この腫瘍内不均一性は中立進化により生じる可能性が示されている。腫瘍内不均一性はがんの治療抵抗性の根本的な原因である可能性もあり、腫瘍内不均一性を生じるがんの進化のシステムレベルでの原理的な理解は臨床的にも重要である。そのためには、今後、がんの研究において異分野との融合を推進していく必要がある。それをみすえて、このレビューにおいては、この分野のこれまでの知見および期待される展開について解説する。

はじめに

ひとつの腫瘍のなかにはゲノムの異なる複数のクローンの存在することが知られており、この現象は腫瘍内不均一性とよばれている。腫瘍内不均一性はさまざまなタイプのがんにおいて観察されており、がんの治療抵抗性の一因になっていると考えられる。つまり、腫瘍内不均一性があると、治療感受性のクローンが大多数をしめる腫瘍が治療により縮小しても、治療抵抗性の少数のクローンが残存する可能性があり、やがて、そのようなクローンが増殖して再発にいたることが考えられる。腫瘍内不均一性はがんの進化の過程でクローンが分岐することにより生じると考えられる。

1976年、体細胞変異の獲得および変異を獲得したクロ

ーンへの自然選択が段階的に起こることにより、がんは単一の正常な細胞から生じることが提唱された¹⁾。つまり、がん細胞の進化は非生殖分裂をする単細胞生物のダーウィンの進化と同様にとらえることができる。このがんのクローン進化説が提唱されたのち、分子生物学によりがん遺伝子およびがん抑制遺伝子が発見され、1990年、これらの発見とクローン進化説は多段階発がん仮説として統合された²⁾。すなわち、大腸がんの発がんの過程において、*APC* 遺伝子、*KRAS* 遺伝子、*TP53* 遺伝子などに発がんの原因となる複数の変異が順に蓄積することにより、正常な上皮細胞が良性腫瘍をへて悪性腫瘍へと直線的に変化するというモデルが提唱された。それ以降、個別の遺伝子レベルでの実験において腫瘍内不均一性の存在が示唆されてきたものの、直線的なクローンの進化をへて悪性度の高いクローナルな細胞の集団として腫瘍が形成されるというモデルが一般的な発がんの過程のイメージとして受け入れられてきた。

1. ゲノム解析による腫瘍内不均一性の解明

近年、次世代シーケンサー (next generation sequencer : NGS) の登場により、がんにおける体細胞変異の包括的なプロファイル、すなわち、がんゲノムを安価かつ迅速に解読することが可能になり、これまで分子生物学が中心であったがんの研究分野において急速なパラダイムシフトが起こっている。The Cancer Genome Atlas (TCGA) や International Cancer Genome Consortium (ICGC) におけるような多数の患者から得た試料において塩基配列を解読するゲノム研究により、その変異ががんの発生や進展の直接的な原因になるドライバー遺伝子が数多く同定され、さまざまながんにおいて変異のカatalog

が作成されている。また、これらの研究により、同一のがんの患者のあいだでもがんゲノムにいちじるしい不均一性のあることが明らかにされ、個別化医療の必要性がとらえられている^{3,4)}。

さらに、このような腫瘍間不均一性のゲノム解析にくわえ、腫瘍内不均一性についても、ここ数年の次世代シーケンサーによる包括的な解析により、複数の種類のがんにおいて、これまでの想定以上に広汎な腫瘍内不均一性の存在することが明らかにされてきた。そのような研究においては、同一の患者の腫瘍の複数の部位から得た試料において塩基配列を解読する多領域シーケンシング (multiregion sequencing) とよばれるアプローチがとられる (図 1)。たとえば、10 症例の腎臓がんにおいて原発巣および転移巣の異なる部位から複数の検体を取得して全エクソンの塩基配列を解読した報告がある^{5,6)}。通常、多領域シーケンシングにおいては、部位に共通して存在するファウンダー変異と共通しないプログレッサー変異が観察される。クローン進化説と照らしあわせると、単一の正常な細胞がファウンダー変異を獲得して共通祖先クローンが現われ、そのうち、プログレッサー変異を獲得することによりサブクローンに分岐すると考えられる。また、このような変異のパターンからは進化系統樹を推定することができる。この多領域シーケンシングにより、腎臓がんにおけるいちじるしい腫瘍内不均一性が明らかにされ、*VHL* 遺伝子などファウンダー変異として変異を獲得する既知のドライバー遺伝子が存在する一方、*SETD2* 遺伝子や *BAP1* 遺伝子などのドライバー遺伝子はプログレッサー変異として変異を獲得することが明らかにされた。とくにこれらの遺伝子に関しては、症例により同一の遺伝子において平行進化により独立してプログレッサー変異を獲得することが観察された。この結果から、腫瘍内不均一性の一部は自然選択により生じることが示唆された。

また、腫瘍の単一の部位から得た試料を高深度シーケンシング (deep sequencing) することによっても腫瘍内不均一性の情報を取得できる (図 2)。次世代シーケン

サーの利点のひとつとして、ゲノムにおいて特定の座標の変異につき、その部位をカバーするリードを十分に取得することにより、その変異をもつアレル頻度を測定できる点があげられる。高深度シーケンシングはアレル頻度の正確な測定およびアレル頻度の低い変異の同定を目的として、リードを通常より高い数百~数千といったカバー率で解読する方法である。たとえば、21 症例の乳がんにおいて原発巣から得た試料の全ゲノムについて高深度シーケンシングした報告がある⁷⁾。試料のおおのの変異のアレル頻度の情報が取得できると、それをもとにサブクローンの構造に関する情報を取得できる。もし、腫瘍が完全にクローナルでコピー数変化がなければすべてのアレル頻度は 0.5 になる。実際には、正常な細胞が混入しているので変異のアレル頻度は 0.5 より小さくなり、コピー数変化のある変異に関してもこのアレル頻度からずれることになる。さらに、サブクローンに由来する変異はコピー数変化あるいは正常な細胞の混入により説明できない、アレル頻度の低い変異として観察される。この報告では、同一のリードにおいて 1 塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) およびサブクローナルな変異が共起しているかどうかの情報から、おおのの変異およびコピー数変化がどのような順に起こったかを計算し、乳がんの進化の過程を推定している。このような高深度シーケンシングのデータから腫瘍内不均一性およびがんの進化の過程を推定する問題はバイオインフォマティクスの観点からも興味深く、複数の手法が開発されている⁸⁻¹¹⁾。

最近の研究においては、多領域シーケンシングと高深度シーケンシングのどちらかではなく、この 2 つのアプローチを組み合わせることでおおのの部位における腫瘍内不均一性まで解析されている。たとえばこれまでに、肺がん^{12,13)}、乳がん¹⁴⁾、前立腺がん^{15,16)}、卵巣がん¹⁷⁾、低悪性度グリオーマ¹⁸⁾ などにおいて、腫瘍内不均一性について報告されている。筆者らも、9 症例の大腸がんの全エクソンについて多領域シーケンシングし、おおのの症例においてファウンダー変異およびプログレッサー変異を同

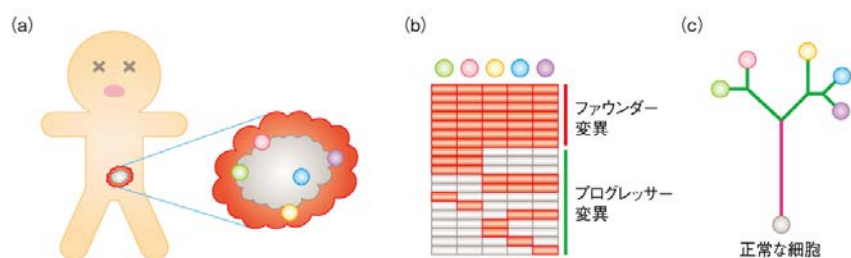


図 1 多領域シーケンシング

(a) ひとりの患者の腫瘍の複数の部位から試料を得る。

(b) 次世代シーケンサーによりおおのの部位の変異プロファイルを取得する。通常、すべての部位に共通したファウンダー変異と、共通しないプログレッサー変異が存在する。

(c) それらをもとに進化系統樹を推定する。

定した¹⁹⁾。プログレッサー変異のパターンは腫瘍における試料の取得部位ときれいに相関しつつ、広汎な腫瘍内不均一性を示した。また、おのおのの部位においてファウンダー変異はクローナルな変異として存在するが、プログレッサー変異はサブクローナルな変異として存在することが見出された。このことから、ひとつの部位においても多領域シーケンシングの解像度ではとらえられない不均一性の存在することが示された。また、*KRAS* 遺伝子や *APC* 遺伝子など既知のドライバー遺伝子はファウンダー変異として存在する一方、腎臓がんとは対照的に、プログレッサー変異に明らかなドライバー遺伝子は少なく、平行進化も観察されなかった。ほかのがんにおいても、前立腺がんや低悪性度グリオーマなど平行進化が観察されるものがある一方、そうでないものもあり、自然選択により腫瘍内不均一性の起源のすべては説明されないことが示唆された。

2. 腫瘍内不均一性を生じる進化の原理を探索する数理的研究

ゲノム解析によりさまざまながんにおいて広汎な腫瘍内不均一性のあることが明らかにされたが、ゲノム解析のみでそれを生じる機構の理解にいたるのは困難である。そのこともあり、近年、腫瘍内不均一性を生じる進化の原理を探索することを目的とした数理的研究が進められている。

発がんの過程に関する数理的研究には長い歴史があり、古典的には、1971年、網膜芽細胞腫の発症年齢の解析から導き出された2ヒット説が有名である²⁰⁾。非遺伝性の網膜芽細胞腫にはDNAへの2つのヒットが必要である一方、遺伝性の網膜芽細胞腫を患う子どもは遺伝的に第1のヒットをもち第2のヒットのみ必要なので若年性に発症する、という仮説がたてられた。のちに、この仮説はがん抑制遺伝子として *Rb* 遺伝子が発見されることにより証

明された。

近年では、がんの進化を数理モデルで表わし進化ダイナミクスを解析する研究がさかんである。一般に、数理モデルは方程式のかたちで示され、その解を求めたり性質を調べたりされる。このアプローチは古典力学においてニュートンの運動方程式を解いて投げたボールの軌道を予測することに似ている。初期値とパラメーター、つまり、ボールの初速と質量が決定すれば軌道は正確に計算でき、放物線を描くことが予測できる。がんのシステムをボールのようにシンプルな運動方程式のかたちで記述するのはむずかしいと思われるが、理想的には、なにかしら物理的な方程式のあるものと期待される。数理的研究においては、複雑さのなかにある本質をとらえて抽象化した方程式により表現し、システムのダイナミクスが定量的に解析される。最近のがんの数理的研究においては、株価やブラウン運動する粒子など確率的に変動するシステムを記述するのに用いられる確率過程という理論的な枠組みがよく用いられる。多段階発がん仮説を確率モデルによりモデル化して発がんまでの時間を推定したり、直線的な進化の過程において腫瘍内不均一性のダイナミクスを追跡したりした研究が報告されている²¹⁻²⁵⁾。ボールの軌道についての運動方程式は解析的に求解が可能、つまり、数式を操作することにより解を求めることができる。これらの研究においても、解析的に求解の可能な方程式までがんの進化を抽象化して解析的に解かれている。

一方で、より現実なモデルは解析的に求解の可能な方程式により表現するのはむずかしいことも多い。しかしながら、そのような場合でもコンピューターを用いた数値計算により十分に正確な解を求めることができる。このアプローチはシミュレーションとよばれ、その代表例が天気予報である。雲の動きを非線形の運動方程式により記述し、観測データから得られた初期条件およびパラメーターを用いてスーパーコンピューターにより雲の動きを予測する。

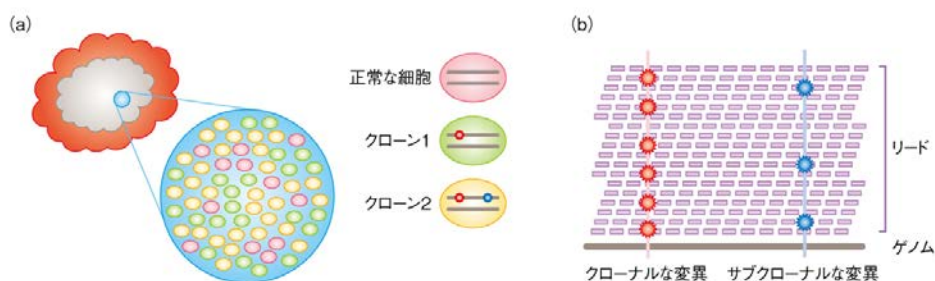


図2 高深度シーケンシング

(a) 通常、腫瘍のひとつの部位から得た試料にも、ゲノムの異なる複数の細胞が含まれる。

(b) 正常な細胞、クローナルな変異をひとつもつクローン1、クローナルな変異をひとつおよびサブクローナルな変異をひとつもつクローン2が存在するとする。次世代シーケンサーにより、おのおの変異が存在するゲノムの座標をカバーする十分な量のリードを取得することで、おのおの細胞の混合比率を反映した変異のアレル頻度が取得される。逆にいえば、おのおの変異のアレル頻度から腫瘍内不均一性についての情報を得ることができる。

解析的な手法を中心とする数理的な研究は理論科学ともよばれ、長年、実験科学に相対するものとして存在してきたが、近年、計算科学ともよばれるシミュレーションを中心とする数理的な研究は、実験と理論科学とのあいだをうめる存在として重要性を増している。

がんの研究においても、シミュレーションによるがんの進化の再現が試みられている。複数の研究において用いられているシミュレーション法のひとつとして、セルオートマトン (cellular automaton) モデルがあげられる (エージェントベースモデルの名称も使われる)。セルオートマトンモデルは、セルオートマトンとよばれる独立したシステムの構成因子を仮定し、セルオートマトン自体の自立的なふるまい、セルオートマトン間およびセルオートマトン環境の相互作用の規則を規定したものである。セルオートマトンモデルはもはや数式のかたちはとらないが、シミュレーションのひとつの利点として、このような数式によらない柔軟性に富んだモデルの表現が可能となる。初期条件およびシステムのパラメーターを含むこれら規則があたえられれば複雑なシステムの挙動を簡単に再現し分析できるので、セルオートマトンモデルは社会学、経済学、生物学など分野をこえて利用されている。がんをシミュレーションする場合、おのおのの細胞をセルオートマトンとして仮定するのがもっとも自然と考えられ、腫瘍内不均一性もおのおののセルオートマトンの内部状態の違いにより容易に表現できる。たとえば、2002 年には、

数個の遺伝子をもつおのおのの細胞をセルオートマトンとして仮定し、それらに変異を導入しながら増殖させることにより、実験データにみられるような空間的な腫瘍不均一性が再現されている²⁶⁾。それ以降も、セルオートマトンモデルを用いたがんの進化シミュレーションにより腫瘍不均一性の生じる機構を探索する複数の研究が報告されている。がん幹細胞の存在がゲノムの腫瘍内不均一性に寄与する可能性が示され²⁷⁾、3次元の空間における細胞の相互作用およびターンオーバーが腫瘍内不均一性に及ぼす影響が解析された²⁸⁾。

しかしながら、最近のゲノム解析により明らかにされた広汎な腫瘍内不均一性を十分に表現できるモデルは構築されていない。筆者らは、大腸がんにおける多領域シーケンシングの結果を再現し腫瘍内不均一性を生じる原理を探索することを目的として、新規のセルオートマトンモデルとしてBEP (branching evolutionary processes) モデルを構築した^{19,29)} (図3a)。このBEPモデルにおいても、おのおのの細胞をセルオートマトンとして仮定する。おのおのの細胞は d 個のドライバー遺伝子を含む n 個の遺伝子を持ち、単位時間あたり確率 p で分裂し確率 q で死ぬとする。さらに、細胞が分裂する際、おのおのの遺伝子には変異率 r でランダムに変異が導入され、ドライバー遺伝子に変異を獲得すると増殖速度 p が 10^f 倍ずつ増加する。つまり、 f はドライバー遺伝子の強さとみなせる。適当なパラメーター値をあたえ以上の規則にしたがい細胞を増

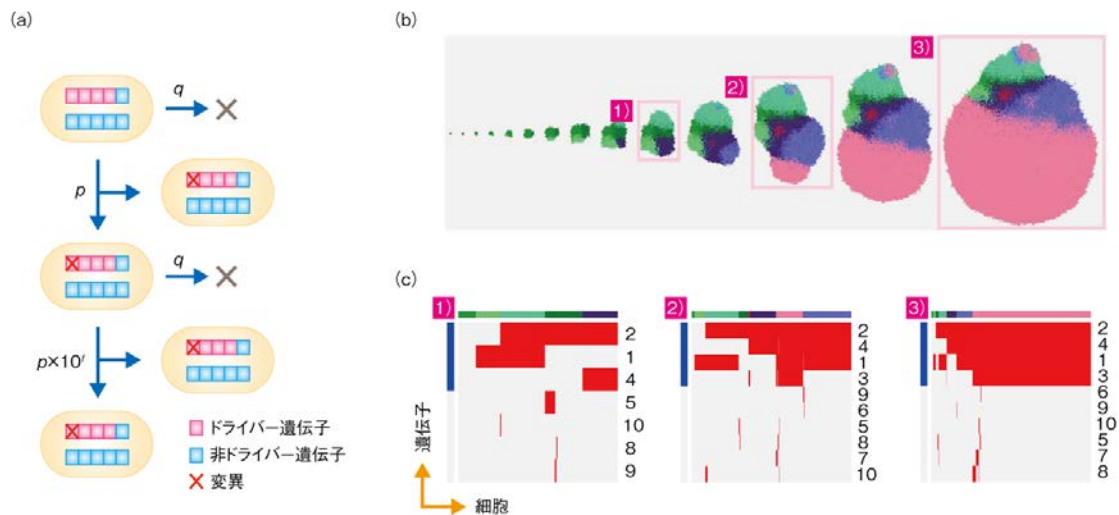


図3 BEPモデル

(a) おのおのの細胞は n 個 (この例では、10 個) の遺伝子を持ち、単位時間あたり確率 p で分裂し確率 q で死ぬとする。細胞が分裂する際、おのおのの遺伝子は変異率 r で変異し、 d 個 (この例では、4 個) のドライバー遺伝子のうちのひとつが変異するごとに増殖速度 p が 10^f 倍ずつ増加するとする。

(b) このモデルに適当なパラメーター値をあたえて、遺伝子変異をもたない 10 個の正常な細胞を約 10^5 個になるまで 2 次元の空間において増殖させた際の時系列スナップショット。それぞれの色は同一の変異遺伝子をもつクローンを示す。

(c) 3 つの時点での腫瘍における変異プロファイル。上の複数の色のバンドは同一の変異遺伝子をもつクローン、左の青いバンドはドライバー遺伝子を示す。

殖させていくと、変異のない正常な細胞が増殖していく過程においてひとつの細胞がひとつのドライバー遺伝子の変異を獲得する。すると、そのクローンの増殖速度が上昇し、自然選択をうけ細胞の集団における割合が上昇する。このようなステップをくり返すことによりおのおのの細胞は確率的にドライバー遺伝子の変異、および、それに付随する増殖速度に影響をあたえないパッセンジャー遺伝子の変異を蓄積し、最終的に、多くの変異を蓄積したがん細胞があつまった腫瘍が形成される。パラメーターの値にもよるが、この進化の過程においておのおのがん細胞に異なる組合せの変異が蓄積され腫瘍内不均一性が形成される。例として、適当なパラメーター値で BEP モデルによるシミュレーションを行い、2次元の空間でがんを成長させたようすを示す (図 3b, c)。この例では、正常な細胞に順にドライバー遺伝子の変異が蓄積し、最終的に4つのドライバー遺伝子の変異をもつクローンが自然選択をうけ多数をしめた。

腫瘍内不均一性の生じる原理を探索するため、スーパーコンピューターによりさまざまなパラメーター値で BEP モデルによるシミュレーションを行うことにより、ゲノム解析から観察される広汎な腫瘍内不均一性が生じる条件を探索した。その結果、高い遺伝子変異率を仮定してがんの進化をシミュレーションし、さらに、*in silico*において形成されたがんを多領域シーケンシングしたところ、大腸がんにおける多領域シーケンシングから得られた変異プロファイルと類似した結果が得られた。すなわち、ファウンダー変異が存在する一方でプログレッサー変異が試料の取得部位と相関した腫瘍内不均一性を示し、かつ、おのおのの部位ごとにプログレッサー変異はサブクローナルな変異として存在し局所における不均一性を示した。さらに、ドライバー遺伝子の変異はファウンダー変異として獲得された一方、プログレッサー変異にドライバー遺伝子の変異はほとんど含まれず、大部分は細胞の増殖速度に影響をあたえない中立の変異であった。つまりこのことから、自然選択によりドライバー遺伝子の変異が蓄積された共通祖先クローンが形成されたのち、中立進化により広汎な腫瘍内不均一性が生じた可能性が示された。中立進化とは、ダーウィンにより提唱された古典的な自然選択による進化に対し、有利でもなく不利でもない中立な変異が集団に偶然に広まったことにより起こる進化の形式であり、1968年、木村資生により提唱された³⁰⁾。発表された当時、中立進化説は古典的な自然選択説の支持者による激しい抵抗にあったが、現在では、生物種間の遺伝的な多様性はおもに中立進化により生じるということは広く受け入れられている。BEPモデルによるシミュレーションにてこのような中立進化が起こる条件においては、ひとつの細胞の変異プロファイルより多領域シーケンシングの解像度ではとらえきれない無数の中立変異を蓄積する微小なクローンが存在するであろうことも予測された。また、高

い変異率の代わりにモデルを拡張してがん幹細胞の存在を仮定しても、同様に中立進化の起こりうるが見い出された。

最近、ほかの研究グループからも、筆者らと同様な結果が報告されている。大腸がんにおける腫瘍内不均一性を多領域シーケンシングと高深度シーケンシングを組み合わせて解析することにより、腫瘍の全体にわたる均一な腫瘍内不均一性が見い出された³¹⁾。さらに、腫瘍のある部位に検出されたプログレッサー変異がそこからはなれた部位にアレル頻度の低いサブクローナルな変異として混ざり込む現象に注目しシミュレーションを用いて検証することにより、ビッグバンモデルが提唱された。このビッグバンモデルでは、がんの進化の初期に多くのサブクローンが生じ、そのうち、それらが一部混ざり合いながら自然選択をうけずに広がり、腫瘍のどの部分においても様に高い不均一性が形成されるとする。また、肝細胞がんにおける多領域シーケンシングのデータから得られたクローンの多様性に関する統計量の計測値が、解析的に導かれた中立進化が成り立つときに得られる理論値と統計的に一致することが示され、腫瘍内不均一性は中立進化により生じると主張された^{32,33)}。中立進化により無数の変異がひとつの腫瘍に蓄積されているとも主張され、これは筆者らの主張とも一致した。

3. これからの展開

ここまで、腫瘍内不均一性を理解するためのがんのゲノム解析および数理的な研究につき、最近の研究について解説した。ゲノム解析により種々のがんにおける広汎な腫瘍内不均一性の存在が示され、数理的な研究からは中立進化により腫瘍内不均一性が生じる可能性が示された。ここから、今後、期待される展開について述べる。

このレビューにおいては、ゲノム、とくに1塩基変異にしばり腫瘍内不均一性について述べてきたが、オミックスのほかの階層においても同様な腫瘍内不均一性のあるものと思われる。筆者らも、大腸がんにおいて1塩基変異にくわえ、DNAコピー数、DNAメチル化、トランスクリプトームの腫瘍内不均一性が互いに相関しあいながら存在することを確認している¹⁹⁾。ほかの研究グループからも、前立腺がんにおけるDNAメチル化の腫瘍内不均一性について報告されている³⁴⁾。また、最近、開発の進んでいる1細胞シーケンシングの技術を利用すれば、オミックスのおのおのの階層における腫瘍内不均一性を究極の解像度でみるのが可能になるだろう³⁵⁾。たとえば、乳がんにおいてゲノムの1細胞シーケンシングが報告されている³⁶⁾。ゲノムの1細胞シーケンシングはDNAコピー数に関しては信頼性のあるデータが得られるようになってきているものの、1塩基変異に関しては技術的なノイズの問題があり完全な1細胞の変異プロファイルを得るのはまだむずかしいのが現状である。そこで、複数の細胞において

同定された 1 塩基変異の高深度シーケンシングにより、多くの変異が低い頻度で存在することが確認された。トランスクリプトームに関しては腫瘍からの試料の調製のむずかしさという問題はあるものの、1 細胞 RNA-seq 法それ自体は技術的にはほぼ完成されている。たとえば、グリオブラストーマにおいてトランスクリプトームの広汎な腫瘍内不均一性が 1 細胞 RNA-seq 法により明らかにされている³⁷⁾。DNA メチル化についても 1 細胞パイサルファイトシーケンシング法の開発が進んでおり、今後のがんの研究への応用が期待される³⁸⁾。

このような新しい実験技術の登場により、今後とも、腫瘍内不均一性に関するデータは量質ともにますます増えていくだろう。データが増加するにつれて、膨大なデータのなかの本質をとらえる数理的な研究の重要性が増してくる。これまでに得られているデータのなかからでも解かれるべき問題がある。たとえば、筆者らにより、大腸がんにおいて平行進化は観察されず腫瘍内不均一性は中立進化により説明される可能性のあることが示された一方で、腎臓がんおよびほかのがん腫においては平行進化がみられ、がんによっては腫瘍内不均一性の一部は自然選択により生じている可能性もある。筆者らは、BEP モデルによるシミュレーションにおいて、中立進化による無数のサブクローンをもつ腫瘍にくわえ、変異率が強く強いドライバー遺伝子のあるときには自然選択により均一な腫瘍が、変異率が強く弱いドライバー遺伝子が複数あるときには自然選択により複数のサブクローンをもつ腫瘍が生じることを見出した。つまり、 H_2O が温度や気圧というパラメーターの違いより氷、水、水蒸気の異なる相をとるように、がんもドライバー遺伝子の数、強さ、変異率などのパラメーターの違いにより異なる進化ダイナミクスの相を示すと考えられた。これらのパラメーターががんにより異

なるのはもっともだと思われるし、同じがんの進化の過程においても変異率などは変化していくと想像される。今後、BEP モデルあるいはより抽象化した数理モデルを解析的に分析したり、種々のがんについてパラメーターのデータを収集したりすることにより、腫瘍内不均一性の生じる原理の詳細をさらにつめていく必要がある。

近年の計算資源の拡大とともに、とくにシミュレーションを中心とする計算科学の可能性が拡大している。筆者らの研究も、スーパーコンピュータを利用することによりはじめて可能となった。BEP モデルによるシミュレーションは確率的であり結果が試行ごとに異なるため、同じ条件の複数の試行の平均をみる必要があり、さらに、十分なパラメーター空間を探索するとなると膨大な計算時間を必要とするため通常の計算資源ではむずかしい。また、生物システムのシミュレーションのむずかしさのひとつとして、多くの内部パラメーターの値が実験的に直接には測定できず正確には決まっていなかったことがあげられる。そのような場合、観測データからパラメーター値を推定する必要があるが、そのようなパラメーターの推定の方法として、近年、実データとシミュレーションモデルがあたえられたときに実データを生じるパラメーター値の確率分布を計算できる approximate Bayesian computation (ABC) 法が注目されている³⁹⁾。もっとも簡単な私たちの ABC 法では、おのおののパラメーター値 (複数のパラメーターがある場合にはその組合せ) について複数回のシミュレーションデータを生成し、データの特徴を記述する要約統計量を用いてシミュレーションデータと実データの類似性を評価して、おのおののパラメーター値において類似したシミュレーションデータが得られる確率を計算する。ベイズの定理より原因と結果を逆転させることができ、この確率は実データがあたえられたときにそのようなデータを生じ

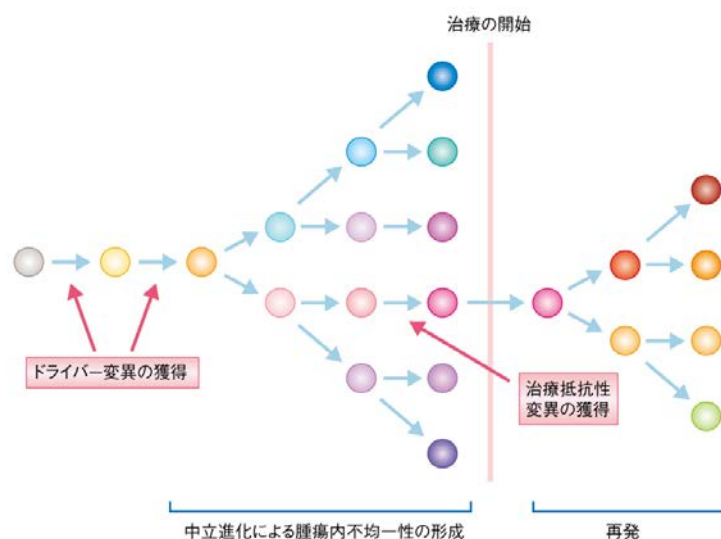


図 4 中立進化による治療抵抗性の獲得

中立進化により生じた無数のサブクローンのなかから、治療抵抗性のクローンが出現し、がんは再発にいたる。

ることのできるパラメーター値の確率分布になる。筆者らも、BEP モデルによるシミュレーションにおいて、実データと同様の変異プロファイルを生じるパラメーター値の探索に ABC 法を用いた¹⁹⁾。さらに、ABC 法はパラメーターの推定だけでなくモデルの選択にも適用が可能である。つまり、ABC 法を用いてあたえられたデータをよりよく再現できるようモデルを改良することができる。筆者らによる BEP モデルはまだトイモデルの域をでていないが、今後、ますます増えていくと思われる腫瘍内不均一性に関する実験データを ABC 法のようなデータ同化手法を用いて数理モデルに取り込んでいくことにより、より現実的ながんの進化のシミュレーションが行えるであろう。

がんの研究分野においては、20 世紀後半の分子生物学の進展により発がんの分子機構が明らかにされ、現在、その知見をもとにさまざまな分子標的薬が開発されている。また、次世代シーケンサーを利用しさまざまながんにおいて変異のカタログ化が進行しており、今後、臨床における塩基配列の解釈と分子標的薬とを組み合わせた個別化医療が進んでいくと考えられる。しかしながら、多くのがんにおいて治療抵抗性の問題は解決されておらず、治療により一時的に縮小した腫瘍も、多くの場合、結局は再発してしまう。筆者らによるシミュレーションの結果より、ひとつの腫瘍のなかに中立進化により生じた無数のクローンが存在していることが予測されたが、この結果は、がんの治療抵抗性の根本的な原因である可能性がある。中立な変異であるかどうかは環境にも依存するので、治療のまえには中立な変異であっても、治療により環境が変わればドライバー遺伝子の変異、つまり、治療抵抗性の変異になりうる。すなわち、どのような治療をしても無数のクローンのなかにそのような変異を獲得した治療抵抗性のクローンが存在してしまい、結局は再発にいたることが考えられる(図 4)。最近の大腸がんにおける抗 EGFR 抗体医薬の治療耐性の獲得に関する研究も、血中マーカーのダイナミクスの数理解析により、治療の開始の際にすでに治療抵抗性のクローンは存在しているという見方が支持されてい

る⁴⁰⁾。

近年、治療抵抗性および感受性クローンを仮定したモデルを用いた数理的な研究により、抗がん剤の投薬の計画を調整することにより、がんの再発を遅延あるいは阻止させることのできる可能性が示されている^{41,42)}(図 5)。たとえば、ひとつの腫瘍に多数の治療感受性のクローンと少数の治療抵抗性のクローンが存在する場合、通常のように大用量の抗がん剤を継続的に投与すれば治療感受性のクローンが減少することにより腫瘍は一時的に縮小するが、やがて、治療抵抗性クローンが増殖することによりがんは再発にいたる。一方で、もし用量を調整して治療感受性クローンをすべて殺さずに治療抵抗性クローンとうまく競合させることができれば、全体としてがんの成長を遅らせて患者の予後を伸ばすことが可能と思われる。また、HIV の治療において行われているように、複数の薬剤を使うことにより治療抵抗性のクローンの出現を抑えられることも示されている⁴³⁾。がんの治療において治療抵抗性の克服は最重要課題のひとつであるが、このような試みに腫瘍内不均一性の解析の研究から見い出された中立進化のモデルを組み込むことにより、解決の糸口がみえてくる可能性がある。

おわりに

これまで、がんの研究分野は分子生物学など個別的あるいは定性的な実験科学が主流であり、一部の例外をのぞき、理論科学および計算科学は華やかな実験科学の陰にかくれていた感がある。しかしながら、現在、次世代シーケンサーに代表される新技術の登場により包括的かつ定量的なデータの取得が可能になり、ようやく、理論科学および計算科学が表舞台に浮上し実験科学と融合する下地が整いつつある。がんの治療は日々進歩しているものの、がんはいまだ不治の病であることに変わりはない。筆者らは、がんを根本的に克服するためには異分野との融合研究によるがんの進化のシステムレベルでの原理的な理解が必

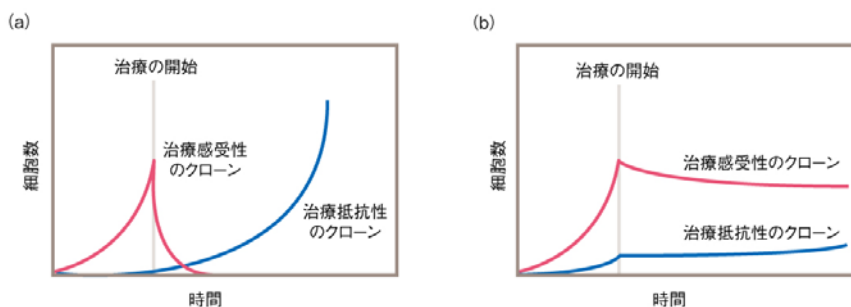


図 5 投薬の計画の調整によるがんの再発の阻止

- (a) 大用量の抗がん剤の投与により腫瘍を小さくしようとすると、がんは再発にいたる。
- (b) 治療感受性のクローンと治療抵抗性のクローンとをうまく競合させつつ腫瘍の成長を抑えられれば、患者の予後を伸ばせるかもしれない。

須であると考えている。今後、さまざまな分野から研究者が参入し、がんの研究における異分野との融合が進むことを期待しつつ筆をおく。

文献

- 1) Nowell, P. C.: The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 194, 23-28 (1976)
- 2) Fearon, E. R. & Vogelstein, B.: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61, 759-767 (1990)
- 3) Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E. et al.: Cancer genome landscapes. *Science*, 339, 1546-1558 (2013)
- 4) Garraway, L. A. & Lander, E. S.: Lessons from the cancer genome. *Cell*, 153, 17-37 (2013)
- 5) Gerlinger, M., Rowan, A. J., Horswell, S. et al.: Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N. Engl. J. Med.*, 366, 883-892 (2012)
- 6) Gerlinger, M., Horswell, S., Larkin, J. et al.: Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat. Genet.*, 46, 225-233 (2014)
- 7) Nik-Zainal, S., Van Loo, P., Wedge, D. C. et al.: The life history of 21 breast cancers. *Cell*, 149, 994-1007 (2012)
- 8) Miller, C. A., White, B. S., Dees, N. D. et al.: SciClone: inferring clonal architecture and tracking the spatial and temporal patterns of tumor evolution. *PLoS Comput. Biol.*, 10, e1003665 (2014)
- 9) Roth, A., Khattra, J., Yap, D. et al.: PyClone: statistical inference of clonal population structure in cancer. *Nat. Methods*, 11, 396-398 (2014)
- 10) Hajirasouliha, I., Mahmoody, A., Raphael, B. J. et al.: A combinatorial approach for analyzing intra-tumor heterogeneity from high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*, 30, i78-i86 (2014)
- 11) Fischer, A., Vazquez-Garcia, I., Illingworth, C. J. et al.: High-definition reconstruction of clonal composition in cancer. *Cell Rep.*, 7, 1740-1752 (2014)
- 12) Zhang, J., Fujimoto, J., Zhang, J. et al.: Intratumor heterogeneity in localized lung adenocarcinomas delineated by multiregion sequencing. *Science*, 346, 256-259 (2014)
- 13) de Bruin, E. C., McGranahan, N., Mitter, R. et al.: Spatial and temporal diversity in genomic instability processes defines lung cancer evolution. *Science*, 346, 251-256 (2014)
- 14) Yates, L. R., Gerstung, M., Knappskog, S. et al.: Subclonal diversification of primary breast cancer revealed by multiregion sequencing. *Nat. Med.*, 21, 751-759 (2015)
- 15) Cooper, C. S., Eeles, R., Wedge, D. C. et al.: Analysis of the genetic phylogeny of multifocal prostate cancer identifies multiple independent clonal expansions in neoplastic and morphologically normal prostate tissue. *Nat. Genet.*, 47, 367-372 (2015)
- 16) Boutros, P. C., Fraser, M., Harding, N. J. et al.: Spatial genomic heterogeneity within localized, multifocal prostate cancer. *Nat. Genet.*, 47, 736-745 (2015)
- 17) Bashashati, A., Ha, G., Tone, A. et al.: Distinct evolutionary trajectories of primary high-grade serous ovarian cancers revealed through spatial mutational profiling. *J. Pathol.*, 231, 21-34 (2013)
- 18) Suzuki, H., Aoki, K., Chiba, K. et al.: Mutational landscape and clonal architecture in grade II and III gliomas. *Nat. Genet.*, 47, 458-468 (2015) [新着論文レビュー]
- 19) Uchi, R., Takahashi, Y., Niida, A. et al.: Integrated multiregional analysis proposing a new model of colorectal cancer evolution. *PLoS Genet.*, DOI: 10.1371/journal.pgen.1005778
- 20) Knudson, A. G. Jr.: Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68, 820-823 (1971)
- 21) Beerwinkel, N., Antal, T., Dingli, D. et al.: Genetic progression and the waiting time to cancer. *PLoS Comput. Biol.*, 3, e225 (2007)
- 22) Haeno, H., Iwasa, Y., Michor, F. et al.: The evolution of two mutations during clonal expansion. *Genetics*, 177, 2209-2221 (2007)
- 23) Bozic, I., Antal, T., Ohtsuki, H. et al.: Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 18545-18550 (2010)
- 24) Iwasa, Y. & Michor, F.: Evolutionary dynamics of intratumor heterogeneity. *PLoS One*, 6, e17866 (2011)
- 25) Durrett, R., Foo, J., Leder, K. et al.: Intratumor heterogeneity in evolutionary models of tumor progression. *Genetics*, 188, 461-477 (2011)
- 26) Gonzalez-Garcia, I., Sole, R. V., Costa, J. et al.: Metapopulation dynamics and spatial heterogeneity in cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 99, 13085-13089 (2002)
- 27) Sottoriva, A., Verhoeff, J. J., Borovski, T. et al.: Cancer stem cell tumor model reveals invasive morphology and increased phenotypical heterogeneity.

- Cancer Res., 70, 46-56 (2010)
- 28) Waclaw, B., Bozic, I., Pittman, M. E. et al.: A spatial model predicts that dispersal and cell turnover limit intratumour heterogeneity. *Nature*, 525, 261-264 (2015)
- 29) Niida, A., Ito, S., Tremmel, G. et al.: Cancer evolution simulation identifies possible principles underlying intratumor heterogeneity. *bioRxiv*, 022806 (2015)
- 30) Kimura, M.: Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217, 624-626 (1968)
- 31) Sottoriva, A., Kang, H., Ma, Z. et al.: A Big Bang model of human colorectal tumor growth. *Nat. Genet.*, 47, 209-216 (2015)
- 32) Ling, S., Hu, Z., Yang, Z. et al.: Extremely high genetic diversity in a single tumor points to prevalence of non-Darwinian cell evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, E6496-E6505 (2015)
- 33) Durrett, R.: Population genetics of neutral mutations in exponentially growing cancer cell populations. *Ann. Appl. Probab.*, 23, 230-250 (2013)
- 34) Brocks, D., Assenov, Y., Minner, S. et al.: Intratumor DNA methylation heterogeneity reflects clonal evolution in aggressive prostate cancer. *Cell Rep.*, 8, 798-806 (2014)
- 35) Navin, N. E.: The first five years of single-cell cancer genomics and beyond. *Genome Res.*, 25, 1499-1507 (2015)
- 36) Wang, Y., Waters, J., Leung, M. L. et al.: Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing. *Nature*, 512, 155-160 (2014)
- 37) Patel, A. P., Tirosh, I., Trombetta, J. J. et al.: Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. *Science*, 344, 1396-1401 (2014)
- 38) Smallwood, S. A., Lee, H. J., Angermueller, C. et al.: Single-cell genome-wide bisulfite sequencing for assessing epigenetic heterogeneity. *Nat. Methods*, 11, 817-820 (2014)
- 39) Csillery, K., Blum, M. G., Gaggiotti, O. E. et al.: Approximate Bayesian Computation (ABC) in practice. *Trends Ecol. Evol.*, 25, 410-418 (2010)
- 40) Diaz, L. A. Jr., Williams, R. T., Wu, J. et al.: The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature*, 486, 537-540 (2012)
- 41) Gatenby, R. A., Silva, A. S., Gillies, R. J. et al.: Adaptive therapy. *Cancer Res.*, 69, 4894-4903 (2009)
- 42) Ideta, A. M., Tanaka, G., Takeuchi, T. et al.: A mathematical model of intermittent androgen suppression for prostate cancer. *J. Nonlinear Sci.*, 18, 593-614 (2008)
- 43) Bozic, I., Reiter, J. G., Allen, B. et al.: Evolutionary dynamics of cancer in response to targeted combination therapy. *Elife*, 2, e00747 (2013)

著者プロフィール

新井田 厚司 (Atsushi Niida)

略歴：2007年 東京大学大学院理学系研究科 修了，同年 東京大学分子細胞生物学研究所 研究員，2008年 東京大学医科学研究所 研究員を経て，2011年より同 特任助教（現 助教）。

研究テーマ：がんのバイオインフォマティクスおよび数理解析。

抱負：実験と数理，および，基礎と臨床の共同研究をつうじて，がんの進化の原理の解明，治療抵抗性の克服，がんの進化のシミュレーションの臨床応用をめざしている。

三森 功士 (Koshi Mimori)

九州大学病院別府病院 教授。

宮野 悟 (Satoru Miyano)

東京大学医科学研究所 教授。