

抄読会 2022 年 1 月 31 日 抄読者 上杉憲幸

A modified protein marker panel to identify four consensus molecular subtypes in colorectal cancer using immunohistochemistry

Xingru Li, Pär Larsson, Ingrid Ljuslinder, Agnes Ling, Anna Löfgren-Burström, Carl Zingmark, Sofia Edin, Richard Palmqvist

Pathology – Research and Practice. 220; 153379: 2021.

要旨

大腸癌は様々な genetic ないしは分子学的な背景を示す heterogenous な疾患であり、患者予後や治療への反応も症例により様々である。現在大腸癌においては、transcriptome profiling に基づく四つの consensus molecular subtypes (CMS1-4)が提唱されており、CMS 分類に基づく、免疫組織化学的な四種類のマーカー、FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 が示されている。しかしながら、免疫組織化学的な CMS 分類では CMS2 と CMS3 を区別することが出来ない。

本研究では、65 例の大腸癌について、transcriptome 解析および免疫組織化学的解析により CMS 分類を行い、77.5%の一致率を得ることが出来た。さらに、TCGA より得られた CMS2 と CMS3 で発現が異なる RNA のデータセットにより免疫組織学的 CMS 分類に修正を加えた。CMS2 のほとんどで Wnt シグナル経路の upregulate がみられ、CTNNB1 (β -catenin) の発現は CMS2 において有意に増加しており、それゆえ免疫組織化学的 CMS 分類に β カテニンの核内蓄積を導入し検討した。修正された分類においては、免疫組織化学と RNA 解析に基づく CMS 分類では 71.4%の一致率が認められた。さらに β カテニン染色は 19 例の CMS2/3 の腫瘍の 16 例を CMS2 ないしは CMS3 に分類することが可能であり、RNA 解析による分類と 84.2%の一致率を得ることが出来た。

Transcriptome 解析と免疫組織化学的解析に基づき CMS を評価し、大腸癌を四つの CMS グループに分類可能な modified IHC パネルを提示することが出来た。我々の知る限り、本報告は免疫組織化学的に大腸癌を四つの CMS に分類することが出来た最初の報告である。

Take Home Message

1. 大腸癌は分子学的な profile により、臨床病理学的、分子病理学的な特徴が異なる四つのグループ(CMS, consensus molecular subtype)に分類することが出来る。
2. 従来の免疫組織化学的パネルでは CMS2 と CMS3 は区別することは出来なかったが、 β カテニンを加えることで、CMS2 と CMS3 を区別することが可能である。

Table 1
The RNA-sequencing based CMS groups in relation to clinicopathological characteristics.

	Total	CMS1	CMS2	CMS3	CMS4	Non-consensus	P value*
Frequency, n (%)	62	19 (30.6)	23 (37.1)	6 (9.7)	5 (8.1)	9 (14.5)	
Sex, n (%)							0.382
Men	36	9 (25)	17 (47.2)	3 (8.3)	3 (8.3)	4 (11.1)	
Women	26	10 (38.5)	6 (23.1)	3 (11.5)	2 (7.7)	5 (19.2)	
Age, n (%)							0.348
≤ 59	8	0 (0)	5 (62.5)	0 (0)	1 (12.5)	2 (25)	
60–69	12	3 (25)	5 (41.7)	2 (16.7)	0 (0)	2 (16.7)	
70–79	27	9 (33.3)	8 (29.6)	2 (7.4)	4 (14.8)	4 (14.8)	
≥ 80	15	7 (46.7)	5 (33.3)	2 (13.3)	0 (0)	1 (6.7)	
Tumour site, n (%)							0.035
Right colon	32	16 (50)	8 (25)	2 (6.3)	2 (6.3)	4 (12.5)	
Left colon	14	2 (14.3)	8 (57.1)	2 (14.3)	1 (7.1)	1 (7.1)	
Rectum	16	1 (6.3)	7 (43.8)	2 (12.5)	2 (12.5)	4 (25)	
Stage, n (%)							0.245
I	10	0 (0)	7 (70)	1 (10)	0 (0)	2 (20)	
II	26	8 (30.8)	8 (30.8)	4 (15.4)	2 (7.7)	4 (15.4)	
III	21	10 (47.6)	6 (28.6)	1 (4.8)	2 (9.5)	2 (9.5)	
IV	5	1 (20)	2 (40)	0 (0)	1 (20)	1 (20)	
Mucinous type, n (%)							0.073
Non-mucinous	53	14 (26.4)	22 (41.5)	4 (7.5)	4 (7.5)	9 (17)	
Mucinous	9	5 (55.6)	1 (11.1)	2 (22.2)	1 (11.1)	0 (0)	
Grade, n (%)							0.001
Low	44	8 (18.2)	22 (50)	4 (9.1)	3 (6.8)	7 (15.9)	
High	18	11 (61.1)	1 (5.6)	2 (11.1)	2 (11.1)	2 (11.1)	
KRAS, n (%)							0.146
Wild type	41	17 (41.5)	14 (34.1)	2 (4.9)	3 (7.3)	5 (12.2)	
Mutated	16	2 (12.5)	7 (43.8)	3 (18.8)	2 (12.5)	2 (12.5)	
BRAF, n (%)							<0.001
Wild type	40	4 (10)	23 (57.5)	5 (12.5)	3 (7.5)	5 (12.5)	
Mutated	21	15 (71.4)	0 (0)	1 (4.8)	2 (9.5)	3 (14.3)	
MSI, n (%)							<0.001
MSS	44	3 (6.8)	23 (52.3)	6 (13.6)	5 (11.4)	7 (15.9)	
MSI	16	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

Abbreviations: CMS consensus molecular subtype; MSI microsatellite instability; MSS microsatellite stable.

* Fisher's exact test.

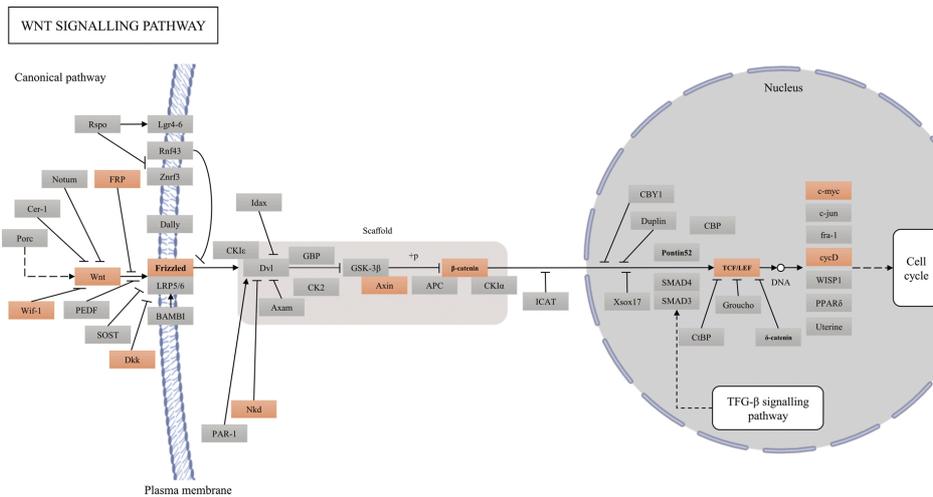
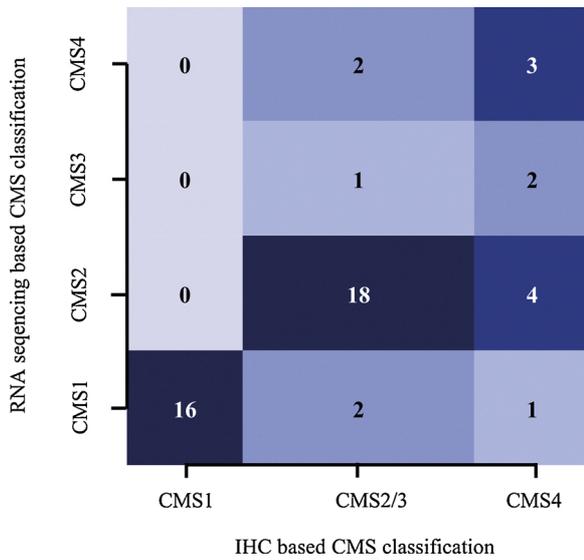


Fig. 2. KEGG pathway analyses of WNT-related genes in CMS2 tumours. The significantly upregulated genes in CMS2 tumours found to be involved in WNT signalling pathway activation, as highlighted in orange. WNT signalling related genes included *CTNNB1* (encoding β -catenin), its co-activator *TCF/LEF*, and downstream target genes (*c-myc* and *Cyclin D1*).

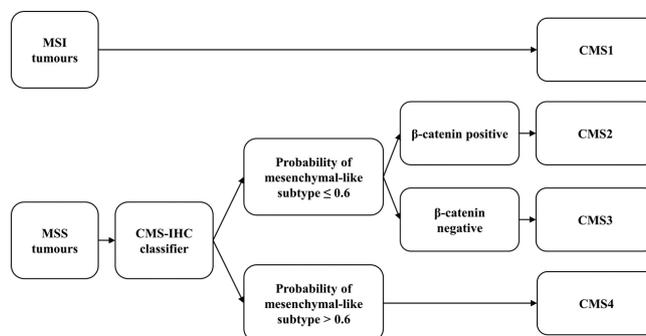


Fig. 3. CMS classification based on IHC. MSI status was first used to define patients who belong to the CMS1 subtype. The remaining patients were then classified into CMS2/3 or CMS4 subtypes using a random forest classifier. Samples with a random forest probability of more than 0.6 were scored as CMS4. The CMS2/3 group was then further divided according to β -catenin staining.

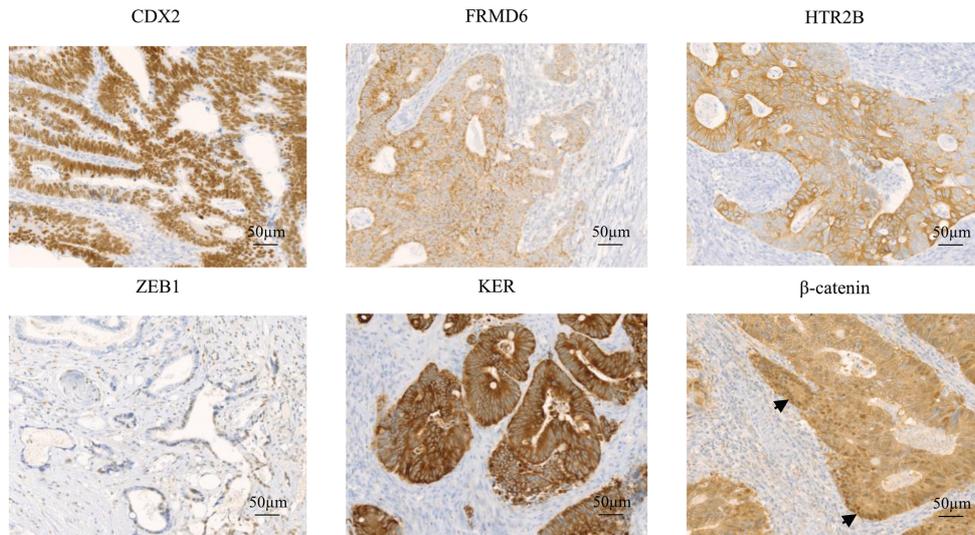


Fig. 4. Representative IHC stainings. Shown are representative light microscopic images of IHC stainings of CDX2, FRMD6, HTR2B, ZEB1, KER, and β -catenin in CRC tumour tissues, as indicated. Examples of positive β -catenin staining are indicated with arrows. Magnification: $20\times$. Scale bar: $50\mu\text{m}$.

Table 2
The IHC-based CMS groups in relation to clinicopathological characteristics.

	Total	CMS1	CMS2	CMS3	CMS4	<i>P</i> value*
Frequency, n (%)	59	16 (27.1)	18 (30.5)	10 (16.9)	15 (25.4)	
Sex, n (%)						0.588
Men	35	8 (22.9)	13 (37.1)	6 (17.1)	8 (22.9)	
Women	24	8 (33.3)	5 (20.8)	4 (16.7)	7 (29.2)	
Age, n (%)						0.129
≤ 59	8	0	5 (62.5)	0	3 (37.5)	
60–69	9	2 (22.2)	3 (33.3)	2 (22.2)	2 (22.2)	
70–79	27	7 (25.9)	9 (33.3)	4 (14.8)	7 (25.9)	
≥ 80	15	7 (46.7)	1 (6.7)	4 (26.7)	3 (20)	
Tumour site, n (%)						0.003
Right colon	33	15 (45.5)	5 (15.2)	6 (18.2)	7 (21.2)	
Left colon	14	1 (7.1)	8 (57.1)	1 (7.1)	4 (28.6)	
Rectum	12	0	5 (41.7)	3 (25)	4 (33.3)	
Stage, n (%)						0.067
I	9	0	6 (66.7)	2 (22.2)	1 (11.1)	
II	23	8 (34.8)	6 (26.1)	5 (21.7)	4 (17.4)	
III	22	7 (31.8)	3 (13.6)	3 (13.6)	9 (40.9)	
IV	5	1 (20)	3 (60)	0	1 (20)	
Mucinous type, n (%)						0.244
Non-mucinous	50	11 (22)	17 (34)	9 (18)	13 (26)	
Mucinous	9	5 (55.6)	1 (11.1)	1 (11.1)	2 (22.2)	
Grade, n (%)						0.046
Low	40	7 (17.5)	16 (40)	7 (17.5)	10 (25)	
High	19	9 (47.4)	2 (10.5)	3 (15.8)	5 (26.3)	
KRAS, n (%)						0.091
Wild type	41	15 (36.6)	10 (24.4)	6 (14.6)	10 (24.4)	
Mutated	16	1 (6.3)	7 (43.8)	4 (25)	4 (25)	
BRAF, n (%)						<0.001
Wild type	36	3 (8.3)	17 (47.2)	6 (16.7)	10 (27.8)	
Mutated	23	13 (56.5)	1 (4.3)	4 (17.4)	5 (21.7)	
MSI, n (%)						<0.001
MSS	43	0	18 (41.9)	10 (23.3)	15 (34.9)	
MSI	16	16 (100)	0	0	0	

Abbreviations: CMS, consensus molecular subtype; MSI, microsatellite instability; MSS, microsatellite stable.

* Fisher's exact test.

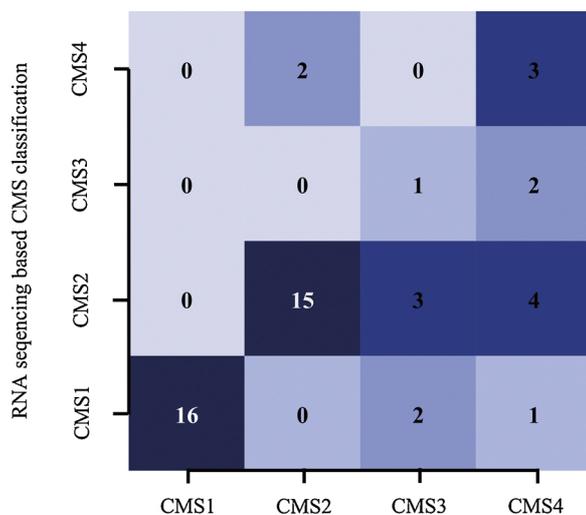


表1 Consensus Molecular Subtype

分類	特長
CMS 1 MSI (14%)	<ul style="list-style-type: none"> ・変異遺伝子数が多く、マイクロサテライトが不安定で、免疫系が活性化している ・女性の右側結腸に多い ・再発後の予後不良 ・右側大腸に多く、盲腸<上行結腸<肝彎曲部
CMS 2 Canonical (37%)	<ul style="list-style-type: none"> ・WNT および MYC シグナル経路が活性化している ・最も予後良好であり、抗 EGFR 抗体の効果が高い ・左側結腸に多く、盲腸<上行結腸<肝彎曲部<横行結腸<脾彎曲部<下行結腸< S 状結腸、直腸は下行結腸と同頻度
CMS 3 Metabolic (13%)	<ul style="list-style-type: none"> ・代謝調節異常が認められる ・KRAS 変異型が多い ・やや右側大腸に多い
CMS4 Mesenchymal (23%)	<ul style="list-style-type: none"> ・β型形質転換増殖因子の活性、間質浸潤、および血管新生がみられる ・やや左側大腸に多い