

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08541

研究課題名(和文) コピー数多型解析によるトラスツズマブ誘発心毒性の発症予測

研究課題名(英文) Genetic polymorphisms predict development of trastuzumab-induced cardiotoxicity

研究代表者

大谷 規彰 (Kisho, Ohtani)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：60380408

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：トラスツズマブ誘発心毒性発症21症例と未発症21症例の全エクソーム解析及び新規変異の同定を行った。その結果、心毒性発症群で検出され、未発症群で検出されない塩基配列変化箇所として234個の挿入欠失配列(InsertionおよびDeletion: InDel)、3,085個の一塩基多様性(Single Nucleotide Variation: SNV)が検出された。その中でTRIM7遺伝子座における変異(exon5:c.684_685insTTT:p.F229delinsFF)は統計学的有意差が認められ、トラスツズマブ心毒性発症原因変異候補の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では本邦独自のトラスツズマブ誘発心毒性の臨床像及び実態を明らかにした。厳格な基準を満たしたトラスツズマブ誘発心毒性発症群と未発症群での差異から、新規原因候補遺伝子、新規塩基配列変化を同定することができた。今回の候補変異が病態に及ぼす意義を解明するには、更なる症例の集積およびin vitroアッセイ系での解析が必要である。今後の更なる検討により、心毒性を回避し、より安全なトラスツズマブ治療の提供に結びつくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to identify novel causative genetic mutations and elucidate the association between the mutations and pathogenesis. Based on our previous results, we hypothesized that genetic factors, in addition to environmental factors, played an essential role in the development of trastuzumab-induced cardiotoxicity (TIC). To identify specific genetic variants which make the patients susceptible to TIC, whole-exome sequencing of germline DNA samples from 21 patients developing TIC and 21 who did not experience TIC was performed. Genomic variants were detected, including 234 insertion-deletion (InDel) mutations and 3,085 single nucleotide variants (SNVs) observed in the TIC group and not found in the unaffected group. Among them, a mutation at a locus on chromosome 5 (TRIM7: NM_203297: exon5: c.684_685insTTT: p.F229delinsFF) was statistically significant ($p < 0.05$), suggesting that it may be a candidate mutation causing TIC.

研究分野：循環器内科学

キーワード：トラスツズマブ 心毒性 ゲノム変異 挿入欠失配列 一塩基多様性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 乳がんはがんの中で日本人女性における罹患率の第一位、壮年期死亡の第一位であり、罹患率、死亡率ともに増加の一途を辿っている。乳がん患者の約 25% に過剰発現している Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) 蛋白は増殖能力、悪性度を高めるが、HER2 蛋白に特異的に結合する分子標的薬トラスツズマブは、HER2 陽性乳がん患者の生命予後を著明に改善した。一方でその副作用である心毒性が生活の質を低下させ、予後改善効果を減弱させている。

(2) 増え続けるがん患者に対して、効果的かつ副作用を避ける適切な薬剤、治療を提供することは、予後の改善だけでなく、生活の質を改善するためにも重要かつ喫緊の問題である。従ってトラスツズマブによる心毒性発症を予測する因子を同定する方法を開発することは急務と考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、本邦でのトラスツズマブ誘発心毒性の実態把握、危険因子の同定である。また、遺伝的要因が、個人間の形質や疾患感受性、薬剤応答、副作用と関連することが強く示唆されているが、心毒性も遺伝的要因を基盤として、環境要因である抗がん剤が加わることで発症すると考えられる。すなわち、乳がん患者の遺伝子要因がトラスツズマブ心毒性の発症に関与している可能性があり、トラスツズマブ心毒性発症を予測可能とする遺伝子多型を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) トラスツズマブ誘発心毒性の実態把握と危険因子の探索

2006 年から 2015 年までに九州大学病院でトラスツズマブの投与を受けた早期及び転移性乳がん患者 160 人 (56 ± 12 歳) を後方視的に解析した。

(2) 次世代シーケンスを用いたトラスツズマブ誘発心毒性の原因遺伝子同定

2006 年から 2020 年までに九州大学病院でトラスツズマブ治療を受けた乳がん患者の詳細な臨床情報解析を行った。その中でアメリカ心エコー学会の定義する心毒性群と、トラスツズマブ投与後に最低 6 回以上心エコーが行われ、前記定義を満たさない未発症群を抽出した。トラスツズマブ投与前のアントラサイクリン投与により心機能が著明に低下した症例は除外した。それらの症例群に対し、インフォームド・コンセントを行い、同意取得症例より正常血球細胞由来の生殖細胞系ゲノム DNA を抽出した。ゲノム DNA の品質確認後に、エクソン領域を濃縮し、全エクソームシーケンスを行い、シーケンス情報を取得した。ヒトゲノム参照配列にマップして比較し、塩基配列変化箇所を探索した。心毒性群で共通して検出され、未発症群で検出されないアミノ酸配列を変化させる塩基配列変化を抽出した。その後既知の一塩基多型データベースや一般対象者に存在する頻度の高い塩基配列変化を除外し、心毒性の関連解析 (Fisher 正確確立検定) を行った。

4. 研究成果

(1) トラスツズマブ誘発心毒性の実態

HER2 陽性早期乳がんに対しトラスツズマブ治療を受けた 129 症例、HER2 陽性転移・再発乳がんに対しトラスツズマブ治療を受けた 31 症例の計 160 症例を検討した。そのうち 122 症例 (76.4%) はトラスツズマブ投与前にアントラサイクリンによる治療を受けていた。観察期間中央値 18 カ月で 27 症例 (16.9%) が心毒性を発症した。トラスツズマブ初回投与後、心毒性発症までの期間は中央値 4 カ月であった。米国国立がん研究所が定める有害事象共通評価基準 v4.0 での有害事象グレード評価では 20 症例 (12.5%) がグレード I 及び II、7 症例 (4.4%) がグレード III に相当した (表 1)。心臓協会心機能分類 I 度及び II 度が 20 症例 (74.1%)、III 度が 7 症例 (25.9%) であった。

分類	症例数	%
トラスツズマブ誘発心毒性	27	16.9
グレード I	10	6.3
グレード II	10	6.3
グレード III	7	4.4
グレード IV	0	0
グレード V	0	0

表1: トラスツズマブ誘発心毒性の有害事象グレード分類

(2) トラスツズマブ誘発心毒性の心機能低下

心毒性はトラスツズマブ初回投与後の中央値 4 ヶ月で発症し、最大左室駆出率低下は $19.8 \pm 9.8\%$ だった (図 1)。トラスツズマブ単独でも、アントラサイクリンとの併用でも有意差なく心毒性を発症していた。心毒性発症 27 症例中の 19 症例 (70.4%) でトラスツズマブが休薬となり、休薬期間は中央値 69 日だった。20 症例 (74.1%) ではトラスツズマブ休薬や心不全治療で心機能が改善したが、心機能改善群でも治療前値までは回復が認められなかった。3.5 年間の追跡期間中に 14 症例が死亡していたが、全て腫瘍関連死亡であった。トラスツズマブ誘発心毒性発症は全死亡には関与していなかった。

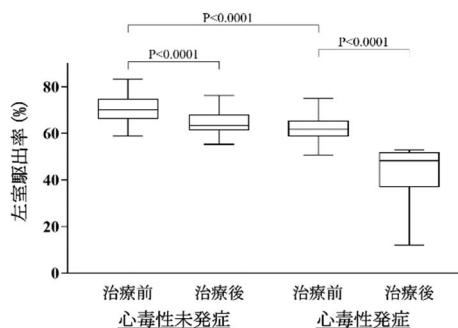


図2: トラスツズマブ誘発性心毒性発症群・未発症群の左室駆出率変化

(3) トラスツズマブ誘発心毒性の危険因子

トラスツズマブ誘発心毒性発症群と未発症群の単変量解析ではトラスツズマブ投与前の左心室拡張末期径、左心室収縮末期径、左室拡張末期容積指標、左室収縮末期容積指標、左室駆出率、組織ドブラでの収縮期波 (s') が心毒性発症に関与していた。多変量解析では左室駆出率低値 (OR per 1% 1.30; 95% CI 1.16-1.48, $P=0.0001$) が心毒性発症の独立した危険因子であった。

説明変数	オッズ比	95%信頼区間	P 値
診断時年齢	1.00	0.96-1.05	0.84
ボディマス指数	1.02	0.90-1.15	0.77
ドキシソルピシン相当投与量	1.00	0.99-1.01	0.16
トラスツズマブ投与前左室駆出率	1.30	1.16-1.48	0.0001

表2: トラスツズマブ誘発性心毒性発症因子の多変量解析

(4) トラスツズマブ誘発心毒性の原因遺伝子同定

厳格な基準を満たしたトラスツズマブ誘発心毒性発症群 21 症例と未発症群 21 症例の全エクソームシーケンシングを行った。その結果、全 42 症例で検出されたゲノム変異は、1,120 個の挿入欠失配列 (Insertion および Deletion: InDel)、66,798 個の一塩基多様性 (Single Nucleotide Variation: SNV) が検知された。そのうち心毒性発症群で検出され、未発症群で検出されないゲノム変異は InDel が 248 個、SNV が 13,199 個であった。さらにエキソームデータベースおよび一塩基多型データベースで認められる変異を除くと、InDel が 232 個 (フレームシフト変異 102 個、非フレームシフト変異 126 個)、SNV が 4,701 個 (アミノ酸置換を起こす非同義置換多型 non-synonymous single nucleotide variant [SNV] 2,996 個、ストップゲイン 58 個、ストップロス 4 個) であった。

心毒性発症群 5 症例で検出され、未発症で全く認められなかった塩基配列変化が InDel で 1 箇所認められた ($p<0.05$)。心毒性発症群 4 症例で検出され、未発症で全く認められなかった塩基配列変化が InDel で 3 箇所認められた ($p=0.11$)。心毒性発症群 3 症例で検出され、未発症で全く認められなかった塩基配列変化が InDel で 2 箇所、非同義置換多型で 9 箇所認められた ($p=0.23$)。心毒性発症群 2 症例で検出され、未発症で全く認められなかった塩基配列変化が InDel で 13 箇所、非同義置換多型で 67 箇所認められた ($p=0.49$)。

そのうち心毒性発症群 5 症例で認められた TRIM7 遺伝子座における変異 (TRIM7:NM_203297:exon5:c.684_685insTTT:p.F229delinsFF) は統計学的有意差が観察された。心毒性のある抗がん剤療法で心臓のオートファジーが増強され、心不全に至ることが報告されている。TRIM7 遺伝子は心臓に発現しており、オートファジーに重要な役割を果たすことが示唆されており、TRIM7 遺伝子変異が心毒性原因変異候補の可能性が示唆された。また、SULF1 遺伝子座における変異 (FGL1:NM_004467:exon6:c.539dupA:p.E180fs) は心毒性発症群 4 症例で認められた。心臓内皮細胞や繊維芽細胞で発現し、ヘパリン/ヘパラン硫酸を脱硫酸化する SULF1 は、上皮成長因子 (EGF) ファミリーの一つで心保護作用をもたらすニューレグリン 1 (Neuregulin-1) と EGF 受容体 (ErbB) ファミリーの分子相互作用に関与することが報告されている。トラスツズマブは ErbB に結合し、心毒性を発揮するため、SULF1 遺伝子変異も心毒性原因変異候補の可能性が示唆された。更なる症例の集積を継続し、心毒性の機序解明に取り組む予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohtani K. et al.	4. 巻 108(10)
2. 論文標題 Cardioprotective effect of renin-angiotensin inhibitors and -blockers in trastuzumab-related cardiotoxicity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Res Cardiol.	6. 最初と最後の頁 1128-1139
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00392-019-01448-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大谷 規彰
2. 発表標題 シンポジウム Cardio-oncology：がん治療関連心機能障害への対応と治療
3. 学会等名 第24回日本心不全学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kisho Ohtani
2. 発表標題 Symposium: A Targeted Approach to Prevent Chemotherapy-related Cardiac Dysfunction by Early Identification and Initiation of Optimal Medical Treatment for Heart Failure
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大谷 規彰
2. 発表標題 教育セミナー：アントラサイクリン系抗がん剤
3. 学会等名 第3回日本腫瘍循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大谷 規彰
2. 発表標題 Onco-Cardiology領域のリハビリ
3. 学会等名 第26回心臓リハビリテーション学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kisho Ohtani
2. 発表標題 Meet the Experts CV Oncology: Can We Prevent Cardiotoxicity?
3. 学会等名 Asian Pacific Society of Cardiology 2019 Congress（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 大谷 規彰	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 6
3. 書名 腫瘍循環器を学ぶ がん治療関連心機能障害 (CTRCD)	

1. 著者名 大谷 規彰	4. 発行年 2021年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 4
3. 書名 心毒性に対するマネジメント (CTRCD を中心に)	

1. 著者名 大谷 規彰	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 2
3. 書名 がん治療関連心機能障害（CTRCD）とは	

1. 著者名 大谷 規彰	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南山堂	5. 総ページ数 6
3. 書名 抗がん薬による心毒性 遮断薬の日米欧ガイドラインにおける位置づけとエビデンス	

1. 著者名 大谷 規彰	4. 発行年 2019年
2. 出版社 日本臨牀	5. 総ページ数 7
3. 書名 心不全の原因疾患 病態、発症機序、治療 薬剤性心筋症	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	久保 真 (Makoto Kubo) (60403961)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	
研究分担者	山下 奈真 (Yamashita Nami) (60608967)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	秋吉 清百合 (Akiyoshi Sayuri) (50567360)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	
研究分担者	筒井 裕之 (Tsutsui Hiroyuki) (70264017)	九州大学・医学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	井手 友美 (Ide Tomomi) (90380625)	九州大学・医学研究院・准教授 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関