

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：86301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07606

研究課題名(和文) 家族性肺癌に対する、次世代シーケンサーを用いた胚細胞性遺伝子変異と治療法の探索

研究課題名(英文) Exploring germline mutations and therapies for hereditary lung cancer using next generation sequencing

研究代表者

牧 佑歩 (Maki, Yuho)

独立行政法人国立病院機構四国がんセンター(臨床研究センター)・その他部局等・医師

研究者番号：20549878

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)：肺癌は予後不良な悪性腫瘍であるが、大腸癌や乳癌と比較して、遺伝性肺癌の研究はほとんど進められていない。報告者は、家族性肺癌を疑う7家系について、本研究の対象とした。これらのうち、比較材料となる肺癌に罹患していない家族の協力が得られた2家系について、次世代シーケンサーで解析を行った。この2家系のうち、3世代に渡る肺癌家系で40代と若年での肺癌症例を含む家系について分析中である。同定されている遺伝子変異数は膨大であるが、病理的意義があると推測する10-20程度の遺伝子変異に絞り込んでいる。今後はこれらの遺伝子が実際に肺癌の原因遺伝子となりえるかを既存データベースや、細胞実験での確認を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌は一般に予後が不良な悪性疾患であるが、早期に発見できれば手術や放射線治療などの局所治療が奏効する。本研究はまだ現時点でシーケンス結果の分析中であるが、家族性肺癌の原因遺伝子が同定できれば、同種の家系においてCTなどのスクリーニングを行う事で早期発見、早期治療が可能となる。また、近年の分子標的薬の開発は、特に肺癌において急速に進んでいるため、同定された遺伝子変異自体を標的とした治療開発の足掛かりともなりえる。

研究成果の概要(英文)：In Japan, lung cancer is the most leading cause of cancer-related death, but compared to colorectal and breast cancer, little is known about hereditary lung cancer. In this study, we included seven families with lung cancer patients. Of these, two families, in which healthy family members were included, analyzed with next-generation sequencers. Of these two families, three generations of lung cancer families including lung cancer cases in their 40s and at a relatively young age are currently being analyzed. Although the number of identified gene mutations is huge, we have narrowed it down to 10-20 gene mutations that are presumed to have pathological significance. In the future, we will confirm whether these genes are actually causative genes of lung cancer by using existing databases or cell-line experiments.

研究分野：肺癌

キーワード：家族性肺癌 次世代シーケンサー

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

原発性肺癌は年間の臓器別悪性腫瘍死亡者数の第1位であり、その罹患者数も増加傾向にある。肺癌については、腫瘍細胞に固有の遺伝子異常である体細胞変異については研究が進められ、EGFR 遺伝子変異、ALK 融合遺伝子を始めとするドライバー遺伝子異常が分子標的治療の対象となっている。しかし、家族性腫瘍の原因となるような生殖細胞系列の遺伝子異常については、現在まで単発家系での報告を中心とした、ごく僅かな研究しかない。乳癌や婦人科癌、大腸癌などの他臓器の癌においては、家族性腫瘍の研究が進み、予防的治療や早期発見・早期治療による二次的予防に臨床応用されている。これまで、肺癌の発生は喫煙を始めとする外部要因が大きいと考えられる傾向にあったが、実臨床では時折、複数の同胞や数世代に渡る肺癌患者を含む家系に遭遇する事がある。

肺癌の罹患においても遺伝的要因が十分に考えられ、家族性肺癌の原因となる遺伝子異常の同定は、新たな治療薬の開発や二次的予防による予後改善および医療費の抑制になり得ると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、家族内に肺癌患者が集積している家系に着目し、未だ報告が僅かである、肺癌の生殖細胞系列の遺伝子異常を発見することを目的としている。他の家族性腫瘍では、遺伝性乳がん卵巣がん (Hereditary Breast and Ovarian Cancer: HBOC) 症候群で PARP 阻害薬である Olaparib が保険収載されていることや、Lynch 症候群では大腸の定期健診(サーベイランス)が行われるなど、実臨床の治療薬開発や二次予防に応用されている。

候補となった遺伝子異常のシグナル伝達経路を解明することによって、分子標的治療薬の開発やスクリーニング法の確立、同様の家系への CT 検診の促進など、新規治療・予防への足掛かりとする。

3. 研究の方法

(1) まず、申請者らの所属施設である四国がんセンターや研究協力施設である岡山大学病院及び関連施設で、家族性肺癌の可能性のある家系を選定した。6家系が候補として挙げられたが、複数の研究協力者が得られた2家系を対象とした。家系1は3世代に渡る肺腺癌で、発症時期が40代と比較的若年での肺癌患者を含む家系であった。家系2は2世代に渡り、多発肺腺癌の3姉妹(うち2人は一卵性双生児)を含む家系であった(図1)。

(2) 外科的切除が行われ、腫瘍検体が残存している症例については、胚細胞性遺伝子異常と既知の体細胞性変異との関連についても調べるため、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) から PCR パネル検査 (AmoyDX®) によるドライバー遺伝子異常の検索を施行した。

(3) 対象の肺癌患者から 20ml の採血を行い、白血球を分離してゲノム DNA を抽出した。また、比較材料として、各家系から複数の非肺癌患者 (健常者: 図1 青矢印) から協力を得て、同様に血液からゲノム DNA を抽出した。これらの DNA について、次世代シーケンサーによる解析を行った。家系1については全ゲノムシーケンスを行い、家系2については全エクソームシーケンスを行った。

非肺癌患者 (健常者) からの DNA でも、単に未発症であり、原因遺伝子の異常を付帯している可能性があることから、東北大学東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo) が公開している日本人基準ゲノム配列 (JRG) などをも参

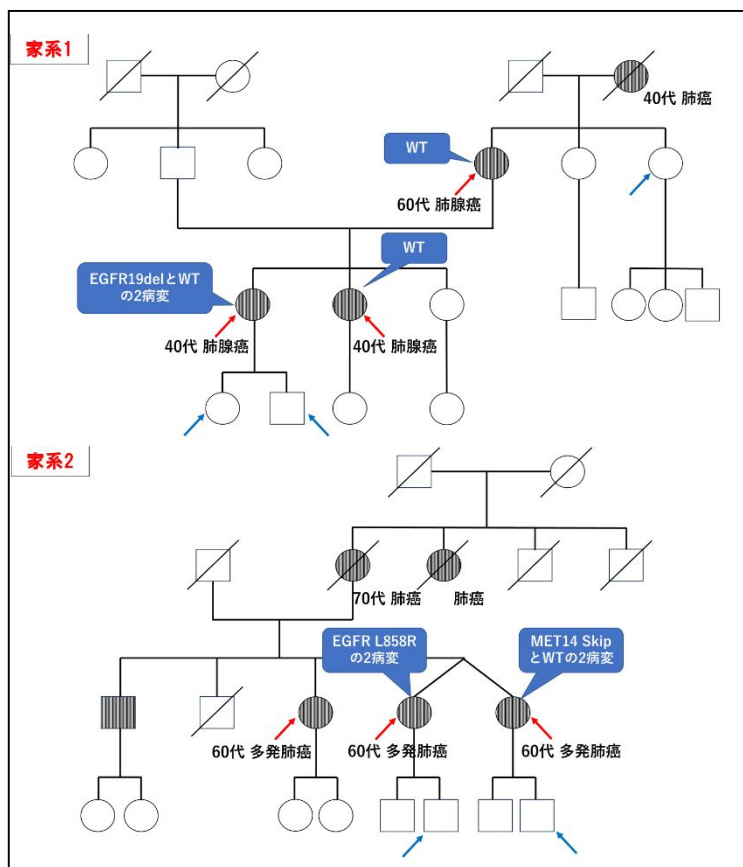


図1. 研究対象家系図と AmoyDX® の結果

考にしながら、対象肺癌患者の胚細胞性遺伝子異常を分析する。

4. 研究成果

(1) 先に肺癌患者の腫瘍検体について、AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルによる体細胞性遺伝子変異（ドライバー遺伝子）の検索を行った。家系 1 においては、研究協力者（図 1 赤矢印）3 人からの切除検体（うち 1 人は 2 病変）を調べたところ、1 病変のみ EGFR ex19del を認め、残りは野生型（Wild type: WT）であった。家系 2 においては 1 卵生双生児の姉妹それぞれから 2 検体ずつの切除標本を解析し、EGFR ex21 L858R を 2 病変、MET14skip を 1 病変検出した。これらのことから、家系 2 については癌抑制系遺伝子の異常が示唆されたが、比較する健常者の協力者が限られていることから、分析には時間がかかることが予想された。

(2) 現在、次世代シーケンサーによる分析が終了し、得られたシーケンス結果を分析中である。家系 1 について、分析を行っているが、得られた遺伝子変異の数は膨大であった。その中から、発症者（肺癌患者）に共通した変異と遺伝子の病理学的意義を参考にしながら、原因遺伝子の候補を絞り込みつつある。現在 10~20 程度の遺伝子を候補として挙げているが、その一部を表 1 に示す。

遺伝子名	特徴
CDK11	mRNA スプライシングの促進
LRRK2	家族性パーキンソン病の原因遺伝子
PRSS1	遺伝性膵炎の原因遺伝子

表 1. 家系 1 での原因遺伝子候補

CDK11 は細胞周期の調整や mRNA のスプライシングを促進する遺伝子として知られ、その阻害薬である OTS964 の腫瘍抑制作用は研究が進められている。また、発癌との関連は不明だが、家族性パーキンソン病の原因遺伝子である LRRK2 や遺伝性膵炎・膵癌との関連が指摘されている PRSS1 が候補として挙げられている。今後、これらの遺伝子の中から、in silico や Cell line での実験により原因遺伝子を追究する予定である。同時に家系 2 についても分析を行う予定である。

参考文献

Hluchy et. al. CDK11 regulates pre-mRNA splicing by phosphorylation of SF3B1. Nature volume 609, pages829-834 (2022)

Blazek et. al. Therapeutic potential of CDK11 in cancer. Clin. Transl. Med. 2023;13:e1201.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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	山本 寛斉 (Yamamoto Hiromasa) (40467733)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	
研究分担者	豊岡 伸一 (Toyooka Shinichi) (30397880)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	富田 秀太 (Tomida Shuta) (10372111)	岡山大学・大学病院・准教授 (15301)	
研究分担者	諏澤 憲 (Suzawa Ken) (90839713)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	
研究分担者	山下 素弘 (Yamashita Motohiro) (40284103)	独立行政法人国立病院機構四国がんセンター（臨床研究センター）・その他部局等・院長 (86301)	

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
---------	---------