

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15605

研究課題名（和文）全国がんctDNA解析プロジェクトを活用した生殖細胞系列BRCA1/2変異の同定

研究課題名（英文）Identification of germline variants in SCRUM-Japan

研究代表者

中村 能章（Nakamura, Yoshiaki）

国立研究開発法人国立がん研究センター・東病院・医員

研究者番号：60776384

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではデータ収集のDx化を目指し、eConsent、EDC、ePROのシステム構築を行った。これまでに85症例の解析を実施し、コホートAでは46/75症例、コホートBでは7/10症例のpathogenic germline variant (PGV) が確定した。内1つはがん遺伝子パネル検査（CGP）では同定されないPGVであり、PGV確定検査時にmulti-gene panel (MGP) を用いたことで偶発的に認められ、MGPの有用性を示唆するものであった。本研究は規模を拡大し、現在も解析を継続している。今後、更にデータ収集と解析を行い、CGPの二次的所見取り扱いについて検討を進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はBRANCH studyのコホートA/Bとして登録を開始し、40以上の多施設共同研究として進行中である。データ収集にあたりDx化を図り、また、PGV確定に至った患者の血縁者に遺伝学的検査を実施するコホートCも開始した。本邦において遺伝学的検査を提供する大規模な多施設共同研究は乏しく、また、がん未発症者を含む血縁者に遺伝学的検査を実施する研究は世界的に見ても珍しく、非常に貴重な研究である。本研究によって、CGPから同定される遺伝性腫瘍、遺伝学的検査や血縁者への影響に関する知見が蓄積していくことで、遺伝性腫瘍関連の研究が飛躍そして発展していくことが期待されている。

研究成果の概要（英文）：In this study, a system with eConsent, EDC, and ePRO was constructed for data collection. 85 cases have been analyzed, and pathogenic germline variant (PGV) was confirmed in 46/75 cases in cohort A and 7/10 cases in cohort B. One of the PGVs was not identified by the comprehensive genomic profiling (CGP) and was incidentally identified by the use of the multi-gene panel (MGP), suggesting the usefulness of the MGP. This study has been scaled up and is still undergoing analysis. Further data will be collected and treatment of secondary findings in CGP will be discussed.

研究分野：医歯薬学（臨床系内科学）

キーワード：がんゲノム医療 遺伝子パネル検査 ctDNA 血液循環腫瘍DNA 遺伝性腫瘍 二次的所見 Circulating tumor DNA

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

分子標的治療薬及び次世代シーケンサー技術の進歩、がん遺伝子パネル検査の開発・承認に伴い、進行がん患者に対するがんゲノム異常に基づく治療（がんゲノム医療）が我が国において普及してきている。がん遺伝子パネル検査（CGP: Comprehensive Genomic Profiling）は、がんゲノム医療の標的となる体細胞変異を同定することが主たる目的である一方、生殖細胞系列病的バリエーション（PGV: Pathogenic Germline Variant）が同時に同定されること（二次的所見）が5-10%程度あると報告されている。腫瘍組織CGPによって同定される二次的所見は、あくまでPGVの可能性（PGPV: Presumed Germline Pathogenic Variant）であり、遺伝性腫瘍の診断には確定検査を必要とする。そのため、患者に対して適切な遺伝カウンセリングの実施が望まれる（図1）。

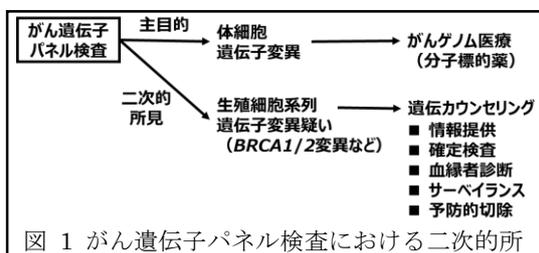


図1 がん遺伝子パネル検査における二次的所見

本研究立案時、SCRUM-Japanでは進行固形がん患者を対象にCGP解析を行うプロジェクトとして、GOZILA (Guardant360)、MONSTAR-SCREEN (FoundationOne と FoundationOne Liquid)、が実施されていた。全国30施設が参加し、2022年3月までにそれぞれ5,000例、2,000例の患者登録を予定していた。Guardant360やFoundationOne Liquidのように血中循環腫瘍DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) を用いたCGPも世界中で開発が進み、2021年度には臨床的に使用できるようになった。しかし、特にctDNAを用いたCGPの二次的所見の報告は限られており、どのような所見を二次的所見として取り扱うべきか、ガイドライン等も存在せず、しばしば臨床で対応に苦慮することがあり、本邦の方針を検討していく必要がある。

また、CGPの結果から遺伝性腫瘍の可能性のあるPGPVが認められ、PGV確定検査を行う場合、sanger sequencingおよびMLPAによるsingle-site解析を行うことがゴールドスタンダードであるが、1患者あたり複数のPGPVが認められることがあり、其々に対しsingle-site解析を行うより、複数遺伝子を網羅的に評価できるmulti-gene panel (MGP) が有用な可能性がある。

2. 研究の目的

腫瘍組織の体細胞変異もしくはctDNAを解析するCGPにて同定されたPGPVについて、

- (1) 生殖細胞系列変異の確定割合を評価し、生殖細胞系列変異予測における適切な変異アレル頻度を検討し、CGPから遺伝性腫瘍の診断に繋げることの有用性を明らかにする。
- (2) PGV確定検査の際に、同時にMGP解析を行い、その有用性を検討する。

3. 研究の方法

- (1) 本研究は、MONSTAR-SCREENやGOZILAプロジェクトのSCRUM-Japanのプラットフォームを利用した多施設共同研究として、新たに立ち上げたBRANCH study (UMIN000046085)の一環として実施する。同意取得はeConsent、症例登録や患者情報登録はEDCにて行い、患者アンケートは患者自身が入力するePROにて収集する。
- (2) 対象：
 - ① コホートA: 固形がんと診断された18歳以上の患者で、FoundationOne Liquid CDx、FoundationOne CDxにおいて二次的所見患者開示推奨度別リストのAAA-Aに該当する遺伝子のPGPVがVAF10%以上で同定されている、もしくはGuardant360においてBRCA1、BRCA2又はATMのPGPVがVAF10%以上で同定され、本研究の同意を得ている。
 - ② コホートB: CGPの結果は①に該当するが、逝去等により同意取得困難な場合、国立がん研究センターの包括的同意が得られている患者の研究用DNA検体を用いる。
- (3) PGV確定検査のため、コホートAに対しては採血を行い、ファルコ社に送付する。コホートBについてはDNA検体をファルコ社へ送付する。ファルコ社は各PGPVに対し、single-site解析と35遺伝子を搭載した35MGPによる解析を行い、研究事務局へ結果を報告する。
- (4) 担当医は患者の同意内容の結果開示希望に応じて、結果を説明する。
- (5) 解析結果や収集した臨床データより、統合解析を行う。

4. 研究成果

(1) 研究開始にあたり

本研究では、臨床研究におけるデジタルトランスフォーメーション化を目指し、研究同意取

得時の eConsent、研究登録者の臨床情報や背景情報等を取得する EDC や ePRO を導入することとなり、それらのシステムの検討と構築を行った。国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認を得て（承認番号：2021-194）2022年3月30日より本研究の登録を開始した。本報告書においては2023年2月3日までの中間解析の結果について報告する。

(2) 研究登録症例の内容

2023年2月3日時点までに、コホート A では75 症例、コホート B では10 症例の登録及び解析を行った。

- ① コホート A：登録がん種は大腸がん(12)、卵巣がん(12)に続いて、膵がん(10)、乳がん(8)、前立腺がん(8)であった（図 2）。また、103 の PGPV が登録され、多い順から *BRCA2*(19)、*TP53*(18)、*ATM*(14)、*BRCA1*(8)、*PALB2*(6)、*CDH1*(6)であった（図 3）。
- ② コホート B：登録がん種は膵がん(3)、食道がん(2)、前立腺がん(2)、乳がん(1)、子宮体がん(1)、胆道がん(1)であった。また PGPV として登録された遺伝子は *BRCA2*(7)、*BRCA1*(2)、*MSH2*(1)、*MSH6*(1)であり、*MSH2* と *MSH6* は同症例からの登録であった。

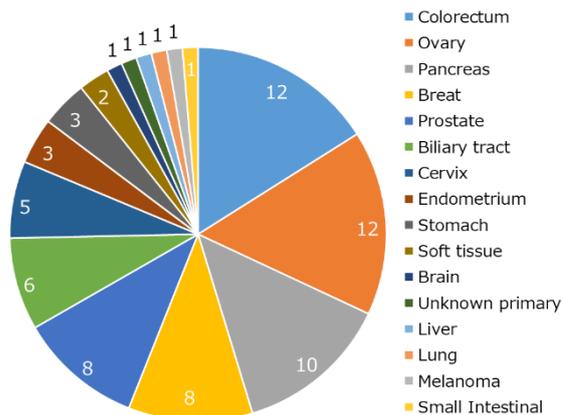


図 2 コホート A の登録がん種

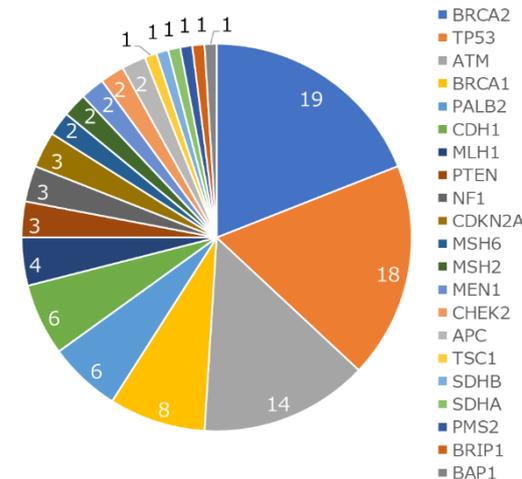


図 3 コホート A の PGPV 登録遺伝子

(3) PGPV 確定検査の結果

- ① コホート A の確定検査結果について、図 4 に示す。確定検査によって 46 の PGV が同定された (46/106, 44.7%)。解析数の限界はあるが、既報¹⁾のように *BRCA1*、*BRCA2*、*SDHA*、*SDHB*、*BRIP1*、*PALB2* は高い確率で PGV が確定していた。また、*MSH2* や *MSH6* も 50% の確率で PGV 確定と、既報¹⁾と同様の結果が得られていた。一方で、*APC*、*PTEN*、*TP53* といった遺伝子変異は、CGP の結果、体細胞変異として頻出するため、PGPV としての取り扱いが困難であるが、本研究では、臨床症状やがん発症年齢も加味された上で登録されていることもあるため、既報¹⁾より高い確率で PGV 確定に至っていた。その他の登録があった PGPV は、体細胞変異であったことがわかった。
- ② コホート B では、確定検査によって 6 の PGV が同定された (6/11, 54.5%)。内訳として、*BRCA2* 57.1% (4/7)、*BRCA1* 100% (2/2) が PGV 確定に至った。これら以外に、*BRCA2* の PGPV の 1 つが生殖細胞系列変異と確認されたが、バリエント評価が良性であった。また、*MSH2* と *MSH6* を PGPV として登録されていた 1 症例については、それぞれの PGV 確定には至らなかったが、35MGP の結果、*EPCAM* から *MSH2* にまたぐ大欠失の PGV が認められた（図 5）。これは CGP では同定されていない PGV であり、つまり、35MGP を実施したことで偶発的に認められたリンチ症候群の原因遺伝子であった。

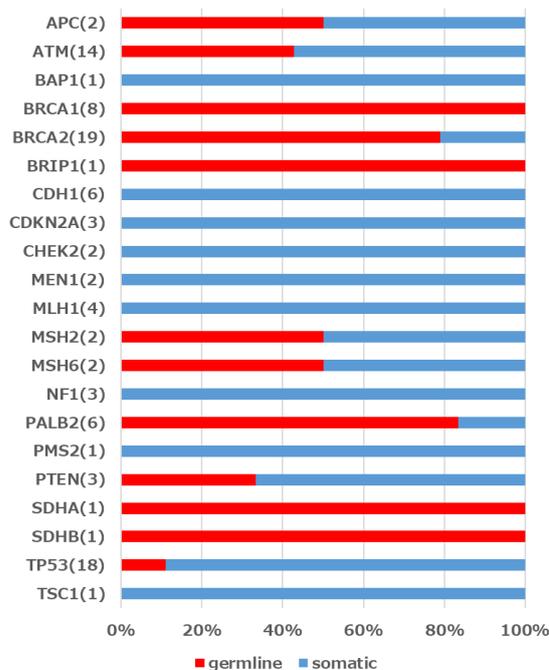


図 4 コホート A の PGPV 解析結果

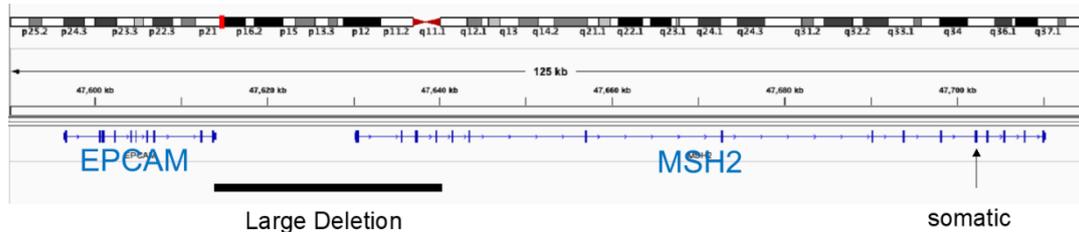


図 5 35MGP によって偶発的に認められた large deletion

いずれも、研究の中期解析結果である。現在進行中の登録と結果をもって、今後も追加解析を行っていく。

(4) PGV と non-PGV の変異アレル頻度の相関

腫瘍組織の CGP から同定され本研究に登録された PGPV と、それらの確定検査から生殖細胞系列バリエーションであることが確定した PGV の変異アレル頻度の相関を図 6 に示す。

PGV が確定した遺伝子変異は 50% 前後であった。しかし、相同組換え修復欠損 (HRD) に関わる HRD 遺伝子 (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*) では、50% より高値の変異アレル頻度が認められていた。*NF1*, *TP53*, *MLH1* では、non-PGV の変異アレル頻度の幅が広く、PGV 確定率も低かった。これらの遺伝子では、CGP から同定された PGPV を確定検査に進めるかどうか、アレル頻度以外の要素として臨床情報や家族歴等を十分に踏まえる必要があると考えられる。

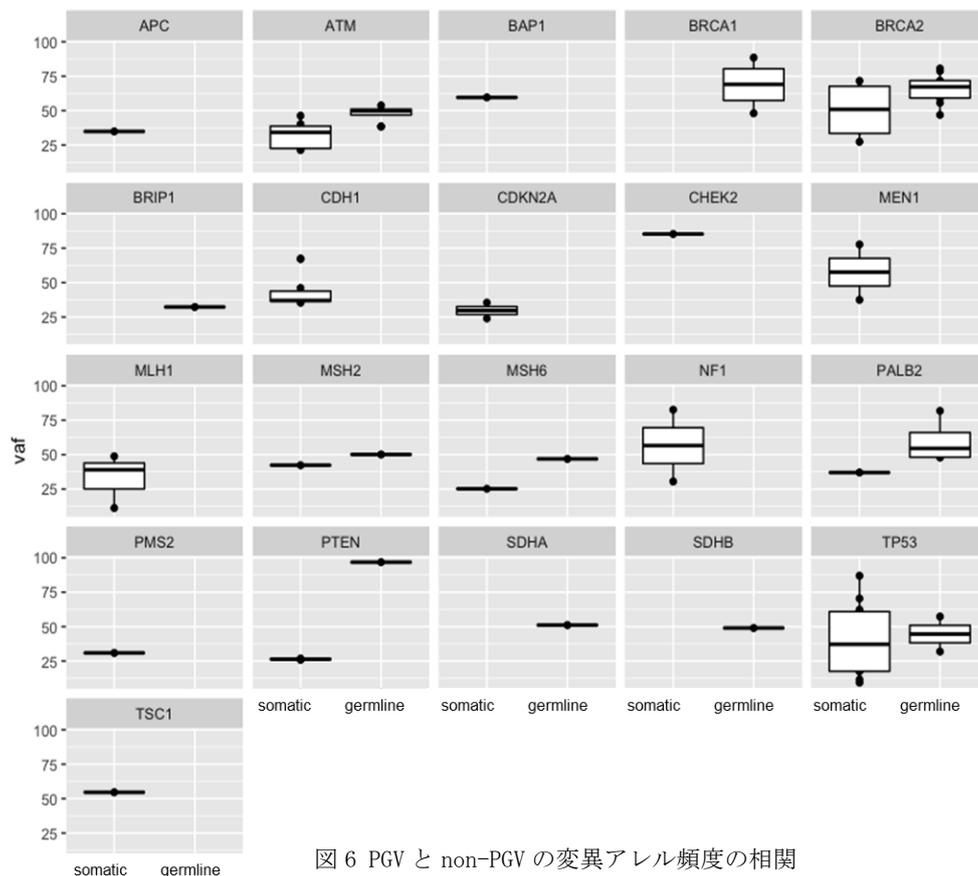


図 6 PGV と non-PGV の変異アレル頻度の相関

(5) 今後の展望

当初、*BRCA1/2* の PGPV を解析していく予定であったが、この立案から、対象遺伝子の内容や規模も充実させた BRANCH study というプロジェクトとして進めていくこととなった。現在、40 以上の施設と共同研究として行い、研究登録も進行中である。今後も解析を進めていき、学術集会や論文発表を予定している。

また、BRANCH study において、コホート A で遺伝性腫瘍の診断に至った患者の血縁者を研究対象とするコホート C が新設され、がん未発症者を含む血縁者に対して遺伝学的検査を提供することとなった。がん未発症者を含む血縁者に遺伝学的検査を実施する研究は、世界でも珍しく、非常に貴重な研究として規模を拡大して実施されている。

本研究の遂行によって、本邦での遺伝性腫瘍と遺伝学的検査に関する研究が飛躍し、今後、更なる重要な知見が得られることが期待されている。

(6) 参考文献

1) Mandelker D, Donoghue M, Talukdar S, et al.: Germline-focussed analysis of tumour-only sequencing: recommendations from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals Oncol* 30: 1221-1231, 2019.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 7件）

1 . 発表者名	Takeshi Kuwata, Yoshiaki Nakamura, Tomohiro Nishina, Naoki Takahashi, Hiroto Narimatsu, Hourin Cho, Chiaki Inagaki, Shigenori Kadowaki, Yoshinaga Okugawa, Sawako Matsuzaki, Naohiro Tomita, Hisateru Yasui, Manami Matsukawa, Kaori Kimura, Yumie Hiraoka, Makoto Hirata, Issei Imoto, Shinji Kosugi, Takayuki Yoshino
2 . 発表標題	Utility of multi-gene panel-based germline analysis following genomic profiling and cascade testing in advanced solid tumors: An initial report of the BRANCH study.
3 . 学会等名	2023 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年	2023年

1 . 発表者名	Yoshiaki Nakamura, Eric Van Cutsem, Tanios Bekaii-Saab, Josep Taberero, Salvatore Siena, Kanwal Raghav, Andrea Cercek, Volker Heinemann, David Adelberg, James Ward, Shan Yang, John Strickler, Thierry Andre, Takayuki Yoshino
2 . 発表標題	MOUNTAINEER-03: Ph 3 study of tucatinib, trastuzumab, and mFOLFUX6 as 1L treatment in HER2+ mCRC (TiP)
3 . 学会等名	2023 the Japanese Society of Medical Oncology Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年	2023年

1 . 発表者名	Yoshiaki Nakamura
2 . 発表標題	Multi-omics-based Precision Oncology for Patients with Advanced Solid Tumors.
3 . 学会等名	2023 the Japanese Society of Medical Oncology Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年	2023年

1 . 発表者名	Yoshiaki Nakamura
2 . 発表標題	Liquid Biopsy-guided Precision Oncology in Advanced Solid Tumors
3 . 学会等名	2023 the Japanese Society of Medical Oncology Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年	2023年

1. 発表者名 Yoshiaki Nakamura
2. 発表標題 Biomarker-targeted therapies for gastric cancers: an emerging paradigm
3. 学会等名 The 95th Annual Meeting of the Japanese Gastric Cancer Association (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshiaki Nakamura
2. 発表標題 Future Horizons of Precision Oncology
3. 学会等名 The 60th Annual Meeting of Japan Society of Clinical Oncology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiaki Nakamura
2. 発表標題 Multi-omics-based Precision Oncology for Patients with Advanced Solid Tumors
3. 学会等名 The 80st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiaki Nakamura
2. 発表標題 Liquid biopsy-guided cancer precision medicine
3. 学会等名 The 42th Japan Society for Molecular Tumor Marker Research (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiaki Nakamura
2. 発表標題 Liquid biopsy-guided cancer precision medicine
3. 学会等名 The 63th Annual Spring Meeting of the Japanese Society of Clinical Oncology (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平岡弓枝, 中村能章
2. 発表標題 Liquid biopsyにおけるgermline findings
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会 第28回日本遺伝子診療学会大会 合同大会 (シンポジウム)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂東英明, 桑田健, 平岡弓枝, 中村能章
2. 発表標題 germline variantを標的とした臨床開発
3. 学会等名 第19回日本臨床腫瘍学会学術集会 (合同シンポジウム)
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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			
米国	Guardant Health			