

平成 30 年 6 月 10 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06856

研究課題名(和文) 肺腺癌の発症に寄与する癌遺伝子の検索

研究課題名(英文) Search of the responsible gene mutations associated with familial hereditary lung cancer

研究代表者

福島 喜代康 (FUKUSHIMA, Kiyoyasu)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：00746620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：現在までに、家族性肺癌の原因遺伝子変異として確定しているものはない。我々は3世代に渡り24名に肺癌の発症を認める、肺癌の常染色体優性遺伝形式が強く疑われる大家系を本邦で初めて見いだした。この家族性肺癌の病原遺伝子変異を同定するため、当大家系内の肺癌患者3名と健常者6名のゲノムDNAのエクソーム解析を行い、17遺伝子変異を検出した。次いで、蛋白質機能予測データベースを用いた変異機能解析で、うち5つの遺伝子に病原遺伝子変異を認めた。

今後の研究でこれら5遺伝子が癌原因遺伝子であることが実証できれば、肺腺癌発症のメカニズム解明につながり、新たな分子診断法や治療薬の創薬が可能になると期待される。

研究成果の概要(英文)：We identified a family lineage of possible autosomal dominant familial lung cancer, which has 24 lung cancer patients within three generations.

In order to detect responsible cancer genes, we performed genome-wide analysis for three lung cancer patients and six cancer-free individuals within the family. Initially we selected 17 gene mutations by linkage-exome approach. And then by mutation-function analysis, five candidate gene mutations were identified. Now we are verifying mutations in those five genes are responsible for this familial hereditary lung cancer.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：肺腺癌 がん遺伝子 遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

現在までのところ、家族性肺がんの原因遺伝子変異として確定しているものはない。日本赤十字社長崎原爆諫早病院では 3 世代に渡って 24 名に肺がんの発生を認めるといふ、肺がんの常染色体優性遺伝形式が強く疑われる大家系を本邦で初めて見いだした(図 1)。

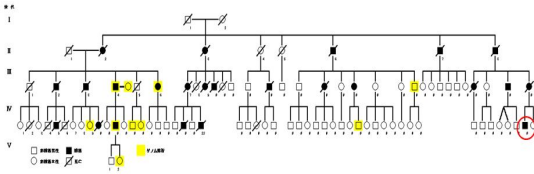


図 1. 家族性肺腺癌家系の家系図

黒塗りされているのが家系内の肺がん患者。赤棒で示されているのが平成 29 年に新たに肺がん発症が判明した患者。

2. 研究の目的

我々は上記家族性肺がん家系のゲノム配列を解析することにより病原遺伝子変異を同定することを目指した。得られる結果は肺がん発症のメカニズム解明と新たな診断法や治療薬の開発にもつながると期待された。

3. 研究の方法

この家族性肺がん家系の病原遺伝子変異を同定するため、図 1 に示した家系内の肺がん患者 3 名(第 2 世代の 4, 6 及び第 3 世代の 12) 及び同一家系内の健常被験者 6 名(第 2 世代の 4W, 22 及び第 3 世代の 13, 15, 16, 18) の計 9 名よりインフォームド Consent のもと血液を採取し、ゲノム DNA を抽出した。このゲノム DNA についてエクソーム変異解析と連鎖不平衡解析を組み合わせたこと(連鎖・エクソームアプローチ)で、当該家系における家族性肺がん関連遺伝子変異を特定してきた(図 2)。

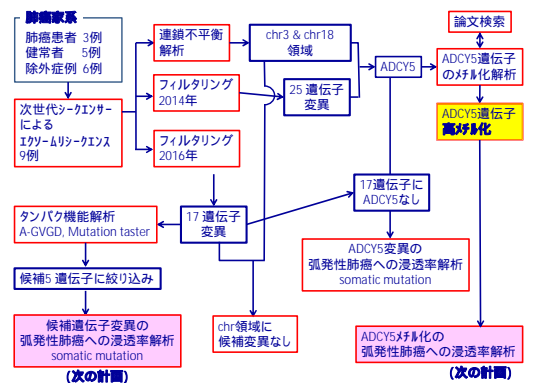


図 2. 患者ゲノムのエクソームリシーケンシングデータからの発癌関連候補遺伝子の絞り込み

まず、2014 年にエクソームリシーケンシングデータを参照配列 hg19 にマッピングし、

得られた約 8 万種の遺伝子変異から癌患者が共通に有し、かつ健常被験者が有さない遺伝子変異を抽出した。それら遺伝子変異から、synonymous 変異、homozygote 変異及び segmental duplications を排除した結果、最終的に 25 種類の遺伝子変異を特定した。

また、同じエクソームリシーケンシングデータを用いて、rsID が付与されている約 2 万個の SNPs を選択し、家系情報を利用して連鎖不平衡解析を行った結果、2.49 ~ 2.69 の高い LOD スコアを示す 2 つの染色体領域 (chr 3、13) を得ることができた。

以上の 2 つの解析結果を重ね合わせたところ、遺伝子 ADCY5 の遺伝子変異が当該家系の家族性肺がん関連遺伝子変異であることが予想された。我々はこの特定した遺伝子における変異が一般の孤発性肺腺癌においても検出されるのか否かについて検討し、さらに本家系の肺がん患者より切除した肺がん組織におけるメチル化についても検討を行った。

しかし本家系における遺伝性肺がんの原因遺伝子が ADCY5 のみと結論付けられる結果が現在までに得られなかった。

そのため 2016 年には、更なる候補遺伝子特定のため、上記エクソームリシーケンシングデータについて Single Nucleotide Variant (SNV) および Short Insertion/Deletion (InDel) を網羅的にスクリーニングした。その後、がんの原因となる遺伝性因子を同定するため、各検体において検出された変異を以下の 4 条件で絞り込みを行った;

クオリティが低い変異を除外、Non-Synonymous 変異(Missense, Nonsense, Readthrough、Insertion、Deletion、Insertion-Deletion、Frameshift) を選抜、癌患者 3 名でヘテロ、健常者 6 名でリファレンス・ホモを示す変異を選抜、ゲノムビューワー上での目視による確認で、明らかな偽陽性変異を除外。その結果 17 変異を選抜した(表 1)。

遺伝子	chrom	amino acid change	1K Genomes JPT Alt Allele Freq	SIFT Prediction
1	2q13	M107V	0.0192	TOLERATED
2	5p13.2-p13.1	T473M	0.1971	DAMAGING
3	18q22.3	N273S	0.0192	TOLERATED
4	19p13.2	D500N	0.0096	DAMAGING
5	19p13.2	R1075L	-	DAMAGING
6	19p13.2	P109S	0.0721	TOLERATED
7	19p13.2	R358C	-	DAMAGING
8	19p13	G1108S	0.0577	TOLERATED
9	19p13	S769C	-	DAMAGING

10	19p13.1	G424S	0.0337	DAMAGING
11	19p13.12	A256T	0.3702	TOLERATED
12	19p13.1	G470R	0.0048	DAMAGING
13	19p13.11	Y149C	0.0288	DAMAGING
14	19p13.11	359R	0.024	Not scored
15	19p12	G459V	-	DAMAGING
16	19p12	T32I	0.101	DAMAGING
17	21q22.11	L1564P	0.0865	DAMAGING

表1. 1次絞り込みの結果選抜された変異 (遺伝子の詳細は省略。太字で示された変異は、1000 Genome 日本人サンプルで頻度が1%未満または頻度情報がないもの)

さらに、選抜された17変異のうち、1000 Genome 日本人データで頻度が1%以上のもの(表1)を除外した後、各変異に関して変異のタンパク質機能への影響を予測した。この予測結果から、5つの遺伝子(特許出願前のため遺伝子名は伏せる)の変異を最終候補とした(表2)。

遺伝子	変異	PolyPhen-2	Align GVDG	Mutation Taster
4	D500N	benign	Class C15	polymorphism
5	R1075L	probably damaging	Class C65	disease causing
7	R358C	probably damaging	Class C65	disease causing
9	S769C	probably damaging	Class C65	polymorphism
12	G470R	probably damaging	Class C65	disease causing
15	G459V	probably damaging	Class C65	disease causing

表2. 2次絞り込みの結果選抜された変異のタンパク質機能への影響予測  
番号5、7、9、12、15の5つの遺伝子上の変異が最終候補。

#### 4. 研究成果

今回の研究において我々は家族性肺腺癌の原因遺伝子の候補5遺伝子を特定することができた。

今後の研究では、非小細胞肺癌において、この5遺伝子の体細胞変異の浸透率を検索することにより家族性肺癌の原因遺伝子特定につなげたいと考えている。

現在までのところ臨床に応用できる肺腺癌の遺伝子変異情報はまだ少なく、今回特定された遺伝子の変異の発現頻度が高ければ、今後肺癌の診断や治療に応用可能となり、医学的、社会的にもたらず貢献は大きいと考え

られる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

福島 喜代康 (FUKUSHIMA, Kiyoyasu)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・  
客員研究員  
研究者番号: 00746620

##### (2) 研究分担者

永安 武 (NAGAYASU, Takeshi)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・  
教授  
研究者番号: 80284686

松本 桂太郎 (MATSUMOTO, Keitaro)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・  
講師  
研究者番号: 80404268

久保 亨 (KUBO, Toru)  
長崎大学・熱帯医学研究所・客員研究員

研究者番号： 50444873

(3)連携研究者  
なし

(4)研究協力者  
なし