

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K09270

研究課題名（和文）BRCA1遺伝子ミスセンスバリエーションのライブラリー作成とがんゲノム医療への応用

研究課題名（英文）Biological analyses of BRCA1 gene missense variants for application to cancer genome medicine

研究代表者

下平 秀樹 (Hideki, Shimodaira)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：70373214

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）：遺伝性乳癌卵巣癌症候群（HBOC）の原因遺伝子であるBRCA遺伝子に変異を有する卵巣癌、乳癌に対して、ポリADPリボースポリメラーゼ（PARP）阻害薬の有効性が示された。また、PARP阻害薬のコンパニオン診断あるいはがん遺伝子パネル検査としてBRCA遺伝子が解析されるようになった。しかし、BRCA遺伝子のミスセンスバリエーションはその臨床的意義を判断することは困難な場合が多い。本研究ではBRCA1遺伝子に関して既報のミスセンスバリエーションのライブラリーを作成し、細胞株を用いた感受性試験のデータベースを構築する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2018年より本邦において開始されたがんゲノム医療においては、エキスパートパネルにより、検出されたバリエーションの臨床的意義を検討し有効な薬剤を探索することが求められている。しかしその際に最も参照されている世界的なデータベースであるClinVarにおいて、明確に病的意義が記載されたバリエーションはごく一部である。したがって、細胞株などを用いたモデル系においてバリエーションの機能や薬剤感受性への影響を解析することは、エキスパートパネルにおける判断の根拠となるデータを増やすことになり、広く医療現場に貢献できる情報といえる。

研究成果の概要（英文）：The efficacy of poly ADP-ribose polymerase (PARP) inhibitors has been demonstrated for ovarian and breast cancers with mutations in the BRCA gene, the gene responsible for hereditary breast-ovarian cancer syndrome (HBOC). The BRCA gene is now also analyzed as a companion diagnosis to PARP inhibitors or as a cancer gene panel test. However, missense variants of the BRCA gene are often difficult to determine their clinical significance. In this study, we will create a library of previously reported missense variants of the BRCA1 gene and establish a database for susceptibility testing using cell lines.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：BRCA1 バリエーション

1. 研究開始当初の背景

- (1) 2018年よりBRCA遺伝学的検査が、PARP阻害薬のコンパニオン診断として保険収載され、2019年にはがん遺伝子パネル検査が保険収載された。これにより、BRCA遺伝子の解析件数が飛躍的に増加したが、BRCA遺伝子にミスセンスバリエーションが検出された場合、臨床的意義不明のバリエーション(VUS)として報告されることが少なからずある。BRCA遺伝子のミスセンスバリエーションに対する機能的評価あるいは薬剤感受性への影響を解析することは臨床の現場において遺伝学的検査の結果を解釈する上で有用な情報を提供することになる。
- (2) 遺伝子バリエーションの意義に関して、現在最も参照されているデータベースであるClinVarにおいて、BRCA1遺伝子のミスセンスバリエーションは4956種類あり、Benign156種類, Likely Benign 55種類, Likely Pathogenic 33種類, Pathogenic102種類と比較的明確に評価がなされているものが少数あるものの、VUS 2879種類, Conflicting interpretations of pathogenicity 330種類,と確定的な評価が困難なものが大多数を占める。したがって、ClinVarを参照してもミスセンスバリエーションの評価は難しい。

2. 研究の目的

BRCA1遺伝子のミスセンスバリエーションを作成し、細胞株に発現しPARP阻害薬に対する感受性を解析することにより、ミスセンスバリエーションがBRCA1の機能に与える影響を評価する。

3. 研究の方法

BRCA1遺伝子のミスセンスバリエーションの作成は、メガプライマー法による部位特異的バリエーション導入と出芽酵母を用いたギャップ修復法によるクローニングにより行う。バリエーション導入後のBRCA1 cDNAフラグメントをエピゾーマルベクターに挿入し、BRCA1欠損卵巣癌細胞株UWB1.289細胞に発現する。PARP阻害薬であるオラパリブに対する感受性を、コントロールとして購入したUWB1.289+BRCA1細胞と比較し解析する。

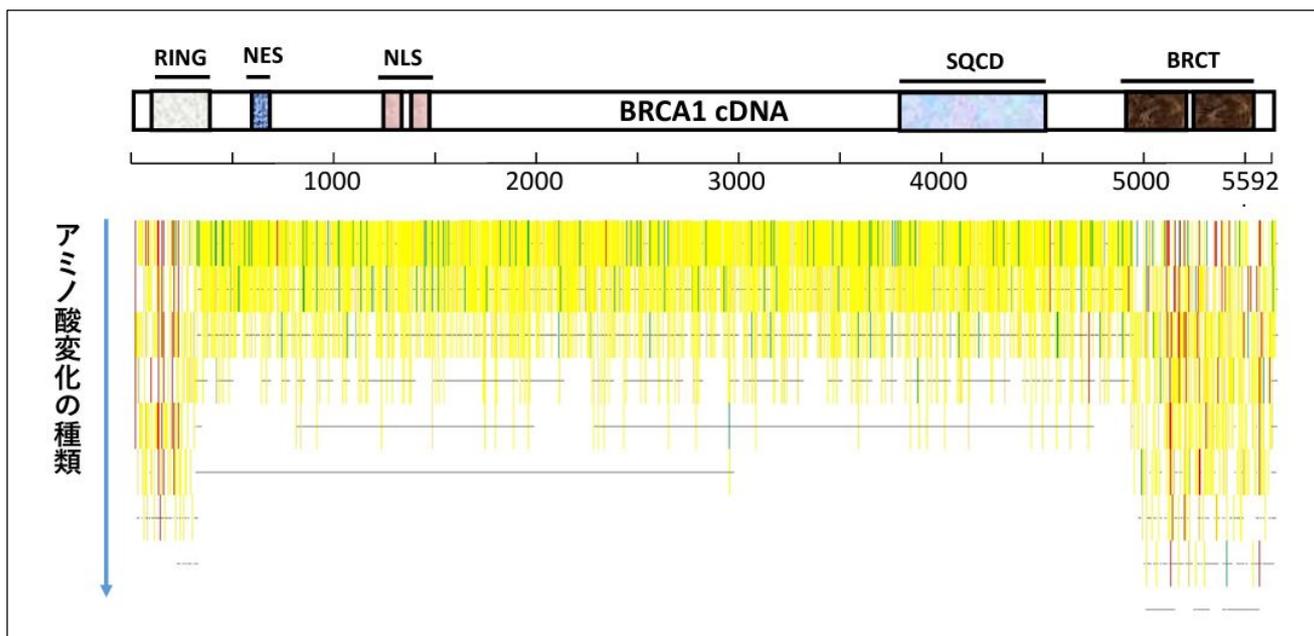
4. 研究成果

(1) BRCA1ミスセンスバリエーション発現細胞のオラパリブへの感受性

BRCA1遺伝子のミスセンスバリエーションを30種類作成し、エピゾーマルベクターに挿入し、リポフェクションにより、UWB1.289のオラパリブに対するIC50は0.25 μ M程度であり、BRCA1遺伝子バリエーション発現によりIC50が10 μ M以上になる場合を機能保持型とした。30種類のBRCA1バリエーションに関して、解析を行い、C61G, C64RなどRINGドメインの3種類, R1699Q, M1775RなどBRCTドメインの10種類が機能喪失型と判定され、それ以外は機能保持型と判定された。各バリエーションにおいて発現量に差があることなど、評価確定には検討課題が残されている。また、少なくとも一部のバリエーションに関しては、

別の細胞株でも同様の結果が得られるかと検討する必要があると考えられる。BRCA1遺伝子バリエーション導入に関しては効率のよいシステムが構築でき、バリエーションを増やすことは可能であるが、本研究中にBRCA1バリエーションに関する大規模な機能解析の論文が報告され、本研究の新規性が出しづらい状況になっている。引き続き研究を継続する意思はあるものの、研究計画の見直しが必要と考えられる。

(2) BRCA1ミスセンスバリエーションのデータベース上の解析から得られたこと



BRCA1 cDNA は 5592bp すなわち 1864 コドンからなり、N 末付近に RING ドメイン、C 末付近に BRCT ドメインをもつ。上記の図は ClinVar に掲載されている BRCA1 遺伝子のミスセンスバリエーションは 4956 種類をアミノ酸ごとに縦のバーで表し、Benign を緑, Likely Benign を黄緑, Likely Pathogenic をオレンジ, Pathogenic を赤、VUS を黄色、Conflicting interpretations of pathogenicity を白にしたものである。明らかに Pathogenic variant は、RING ドメインと BRCT ドメインに集中していることがわかる。これは、すでに何度も報告されていることであり、この 2 つのドメインが BRCT の機能に重要と考えられる。ここで、一つのアミノ酸に対して複数のアミノ酸置換が報告されている場所は、縦のバーが積み重なることになるが、明らかに RING ドメインと BRCT ドメインにおいて、バーが積み重なっている。これが普遍的なこととすれば、「Pathogenic バリエーションが生じる部位にはアミノ酸の変化が多種類報告される」という事象が導かれるかもしれない。進化の過程で保存された場所が機能的に重要な場所と推定されることを考えると上記の現象は理にかなっていないように思われる。現在、上記の現象が他の遺伝子でも認められるかどうか検討している。この事象が真実であれば、なぜそうなるのかを検討することで、次の研究のヒントが得られるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahashi S, Ouchi K, Sakamoto Y, Mori T, Shimodaira H, et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Phase II study of biweekly cetuximab plus mFOLFOX6 or mFOLFIRI as second-line treatment for metastatic colorectal cancer and exploratory analysis of associations between DNA methylation status and the efficacy of the anti-EGFR antibody: T-CORE1201	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Gastrointestinal Oncology	6. 最初と最後の頁 676-691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jgo-22-862	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 -

1. 著者名 下平秀樹	4. 巻 92
2. 論文標題 抗がん薬による腎障害：病態と対策	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 腎と透析	6. 最初と最後の頁 599-603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Yoshioka T, Takahashi M, Sakamoto Y, Okita A, Fukui T, Murakawa Y, Shindo Y, Imai H, Ohori H, Shirota H, Chiba N, Sasahara YI, Nomura T, Fukushima N, Yamaguchi T, Shimodaira H, Ishioka C.	4. 巻 42
2. 論文標題 Cisplatin Plus Capecitabine After Adjuvant S-1 in Metastatic Gastric Cancer: A Phase II T-CORE1102 Trial.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 2009-2015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15680	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 -

1. 著者名 Tomita N, Ishida H, ----- Shimodaira H, Hirasawa A, Nakayama Y, Sekine S, Tamura K, Akagi K, Kawasaki Y, Kobayashi H, Arai M, Itabashi M, Hashiguchi Y, Sugihara K; Japanese Society for Cancer of the Colon, Rectum.	4. 巻 26
2. 論文標題 Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2020 for the Clinical Practice of Hereditary Colorectal Cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 1353-1419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01881-4	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 -

1. 著者名 Takahashi M, Sakamoto Y, Otsuka K, Kanbe M, Ohori H, Shindo Y, Honda H, Saijo K, Ouchi K, Murakawa Y, Takahashi H, Kawai S, Tanaka Y, Yamaguchi T, Shimodaira H, Yoshioka T, Ishioka C.	4. 巻 254
2. 論文標題 Phase II Study of the Reuse of Trastuzumab with Docetaxel beyond Progression after First-Line Treatment in Second-Line Treatment for Unresectable, Metastatic Gastric Cancer (T-CORE1203).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tohoku J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 49-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.254.49	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 -

1. 著者名 Takahashi M, Sakamoto Y, Ohori H, Tsuji Y, Kuroki M, Kato S, Otsuka K, Komine K, Takahashi M, Takahashi S, Shirota H, Ouchi K, Takahashi Y, Imai H, Shibata H, Yoshioka T, Tanaka M, Yamaguchi H, Yamaguchi T, Shimodaira H, Ishioka C.	4. 巻 88
2. 論文標題 Phase II study of trifluridine/tipiracil (TAS-102) therapy in elderly patients with colorectal cancer (T-CORE1401): geriatric assessment tools and plasma drug concentrations as possible predictive biomarkers.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Chemother Pharmacol. 2021 Sep;88(3):393-402. (IF=3.333)	6. 最初と最後の頁 393-402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00280-021-04277-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 下平秀樹	4. 巻 28
2. 論文標題 特集 がん領域診療ガイドラインのアップデート 「大腸がん」	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 腫瘍内科	6. 最初と最後の頁 617-621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 下平秀樹、工藤千枝子	4. 巻 増刊号
2. 論文標題 がんの転移再発予防	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 産科と婦人科	6. 最初と最後の頁 200-202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Oishi T, Sato K, Morita T, Mack JW, Shimodaira H, Takahashi M, Takahashi S, Inoue A, Murakawa Y, Kawahara M, Ishioka C, Miyashita M.	4. 巻 48
2. 論文標題 Patient perceptions of curability and physician-reported disclosures of incurability in Japanese patients with unresectable/recurrent cancer: a cross-sectional survey.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 913-919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyy112	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 -

1. 著者名 Kato S, Imai H, Gamoh M, Takahata T, Ohori H, Yasuda K, Niitani T, Murakawa Y, Amagai K, Isobe H, Shindo Y, Kuroki M, Sakamoto Y, Shimodaira H, Yoshioka T, Ishioka C.	4. 巻 245
2. 論文標題 Intermittent Withdrawal of Oxaliplatin for Alleviating Neurotoxicity during Oxaliplatin-Based Chemotherapy for Japanese Patients with Inoperable or Metastatic Colorectal Cancer: A Phase 2 Multicenter Study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tohoku J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 21-28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.245.21	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 3件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 下平秀樹、工藤千枝子、安田勝洋、小峰啓吾
2. 発表標題 Lynch症候群関連癌におけるがん薬物療法の進歩と今後の展望
3. 学会等名 第28回日本遺伝性腫瘍学会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下平秀樹、工藤千枝子、安田勝洋、小峰啓吾、高橋雅信、石岡千加史
2. 発表標題 原発不明癌に対しがん薬物療法を行ったPeutz-Jeghers症候群の一例
3. 学会等名 第28回日本遺伝性腫瘍学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下平秀樹
2. 発表標題 多臓器癌に対するNAC 食道癌など -
3. 学会等名 第62回日本婦人科学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shimodaira H.
2. 発表標題 Interpreting variants of uncertain significance in hereditary cancer genes in cancer genome era.
3. 学会等名 第17回日本臨床腫瘍学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高島淳生、坂東英明、下平秀樹、他
2. 発表標題 既治療の切除不能進行胃癌を対象としたnab-PTXとRAM併用療法における第II相試験の最終解析結果
3. 学会等名 第16回日本臨床腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 一般社団法人 日本遺伝性腫瘍学会	4. 発行年 2022年
2. 出版社 へるす出版	5. 総ページ数 168
3. 書名 遺伝性腫瘍専門医テキストブック	

1. 著者名 一般社団法人 日本遺伝性腫瘍学会	4. 発行年 2022年
2. 出版社 へるす出版	5. 総ページ数 216
3. 書名 遺伝性腫瘍ケーススタディ-100	

1. 著者名 日本臨床腫瘍学会, (分担執筆) 下平秀樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 757
3. 書名 新臨床腫瘍学 がん薬物療法専門医のために 改訂第6版 「遺伝性腫瘍」日本臨床腫瘍学会編	

1. 著者名 滝口裕一、磯部 威、津端由佳里 (分担執筆) 下平秀樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 233
3. 書名 高齢者がん治療 エビデンス&プラクティス「食道がん」	

1. 著者名 (分担執筆) 下平秀樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メディカルドウ	5. 総ページ数 392
3. 書名 遺伝性腫瘍学入門 遺伝性腫瘍の基礎知識 「免疫チェックポイント阻害薬」	

1. 著者名 大腸癌研究会編 (作成委員; 下平秀樹)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 152
3. 書名 遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2020年版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北医科薬科大学医学部 腫瘍内科学 https://www.tohoku-mpu.ac.jp/medicine/lab/oncology/
--

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	工藤 千枝子 (Kudo Chieko) (70816420)	東北医科薬科大学・医学部・助教 (31305)	

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