

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：94313

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09063

研究課題名(和文) 乳癌リスク評価のための正常細胞内癌抑制遺伝子の構成的エピジェネティック変異解析

研究課題名(英文) Analysis of constitutive epimutations of tumor-suppressor genes in normal cells for breast cancer risk assessment

研究代表者

佐藤 史顕 (Fumiaki, Sato)

株式会社関西メディカルネット(関西電力医学研究所)・外科(神経内分泌腫瘍・乳癌)研究部・上級特別研究員

研究者番号：20467426

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、乳癌関連11遺伝子について乳癌症例血液DNA標本と、健常者の血液DNA標本を用い、日本人女性の乳癌に対する構成的EpMマーカーを同定する。そこから、胚細胞系列病的変異と構成的EpMによる総合的な乳癌リスク評価法を開発する。乳癌関連11遺伝子のプロモーター領域の異常高メチル化を検出する、プライマープローブセットをデザインした。NCBI-GEOの非担がん個体のWBCの全ゲノムメチル化データと、乳癌組織と乳癌細胞株の全ゲノムメチル化データを使用し、それぞれの遺伝子のプロモーター領域で、非担がん個体の標本でほぼメチル化がなく、乳癌細胞でメチル化が認められる領域を選出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、BRCA1/2等の胚細胞系列病的変異キャリアーに対して、積極的なサーベイランスや予防的な外科手術の適応も行われている。それに対して、その他のpopulationには一律の乳がん検診が行われている。近年、癌の治療に関してPrecision Medicineが提唱され、ゲノム情報を用いてより効果の高い治療法の選択を行うという取り組みが進んできている。ならば、がん検診にも生物学的情報を用いたPrecision Surveillanceが求められる時代が遠からず訪れると想定される。本研究課題の目的が達成されれば、その一助になる可能性があると思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we will identify constitutive EpM markers for breast cancer in Japanese women using blood DNA specimens of breast cancer cases and blood DNA specimens of healthy subjects for 11 breast cancer-related genes. From there, we will develop a comprehensive breast cancer risk assessment method based on germline pathogenic variants and constitutive EpM. We designed primer-probe sets to detect aberrant hypermethylation in the promoter regions of 11 breast cancer-related genes. Using NCBI-GEO WBC whole-genome methylation data of nontumor-bearing individuals and whole-genome methylation data of breast cancer tissues and breast cancer cell lines. In the promoter region of each gene, regions were selected that were almost unmethylated in specimens from non-tumor-bearing individuals and that were found to be methylated in breast cancer cells.

研究分野：乳癌 エピジェネティクス

キーワード：乳癌 エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

構成的エピジェネティック変異(constitutive epimutation: 以後、構成的 EpM と略)とは、ある特定の疾病の易罹患性に関連した正常細胞内のエピジェネティック異常を示す。例えば BRCA1 の構成的 EpM は、乳癌早期発症率を 3.5 倍増加させ、卵巣漿液性腺癌の重要なリスク因子となっている。構成的 EpM は、新生児の正常細胞にも検出されることから、親からの遺伝や、受精胚や胎児の発達過程での環境要因からエピジェネティクス形成・維持の異常によって起こり、成人個体の組織・細胞にモザイク上に存在すると考えられている。現在の乳がんや大腸癌などの多くの非血液系癌の構成的 EpM の研究では、血液細胞のエピジェネティック変異を検索しているが、血液細胞のエピジェネティック変異の存在が、腫瘍発生臓器内の正常細胞内のエピジェネティック変異の存在を示唆するという理論に基づいている。

乳癌罹患のリスク評価は現在、疫学的な評価(家族歴、ホルモン環境、生活習慣等)と、乳癌関連遺伝子の胚細胞系列での評価とがなされている。後者に関して、日本人女性の乳癌関連 11 遺伝子(ATM, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53)の胚細胞系列病的変異の大規模解析では(桃沢, et al, Nature Comm, 2018)、5.7%の乳癌患者に病的変異を認めた。京都大学と関連病院の乳癌症例 1808 例においても、全体で 5.6%の変異保有率でほぼ同等の結果であり(川田 et.al. 日本乳癌学会発表、2018)、日本人乳癌における胚細胞系列病的変異の現状はほぼ明らかになった。が、家族歴のある乳癌症例は全体の 15-20% であると言われ、家族集積性の原因の全てが説明されていらない。

本研究課題では、これらの 11 遺伝子に加え、乳癌発がんに関連すると報告されている癌抑制抑制遺伝子群における構成的 EpM が、乳癌罹患に参与していると仮説をたて、どの遺伝子がどの程度の構成的 EpM を持つのか?、また、胚細胞系列病的変異の有無との相関がどのようになっているかを調査する。

2. 研究の目的

本研究では、乳癌関連 11 遺伝子の胚細胞系列病的変異の有無が調べられている乳癌症例 1808 症例の血液 DNA 標本と、健常者の血液 DNA 標本を用い、日本人女性の乳癌に対する構成的 EpM マーカーを同定する。そこから、胚細胞系列病的変異と構成的 EpM とによる総合的な乳癌リスク評価法を開発する。

3. 研究の方法

以下の順に研究を進める

- 1) 構成的 EpM の候補遺伝子群に対するデジタル PCR 用マーカー・プローブ作成
- 2) 乳がん症例、正常個体における候補遺伝子群の構成的 EpM の解析
- 3) 胚細胞系列病的変異と構成的 EpM の統合解析
- 4) 乳癌組織・乳房内正常組織における異常メチル化の有無の検証

4. 研究成果

構成的エピジェネティック変異(constitutive epimutation: 構成的 EpM)とは、ある特定の疾病の易罹患性に関連した正常細胞内のエピジェネティック異常を示す。BRCA1、hMLH1、Rb 遺伝子の構成的 EpM がそれぞれ、乳癌・卵巣癌、大腸癌、網膜芽細胞腫の発症に関連づけられている。本研究では、乳癌関連 11 遺伝子の胚細胞系列病的変異の有無が調べられている乳癌症例 1808 症例の血液 DNA 標本と、健常者の血液 DNA 標本を用い、日本人女性の乳癌に対する構成的 EpM マーカーを同定する。そこから、胚細胞系列病的変異と構成的 EpM とによる総合的な乳癌リスク評価法を開発する。乳癌関連 11 遺伝子のプロモーター領域の異常高メチル化を検出する、プライマープローブセットをデザインした。公的ゲノムデータベースの NCBI-GEO より、非担がん個体の WBC の全ゲノムメチル化データを収集。乳癌組織と乳癌細胞株の全ゲノムメチル化データは以前に publish(Breast Cancer Res. 2016 Dec19;18(1):129)したデータを使用。それぞれの遺伝子の、プロモーター領域(-2000bp TSS 第 1 エクソン)で、非担癌個体の標本でほぼメチル化が内領域を抽出し、乳癌組織や乳癌細胞株でメチル化が一部の症例で認められる領域を選出した。その領域にプライマープローブセットをデザインした。その検出系を検証している。また、京都大学乳癌外科の BORN バイオバンクを中心に、乳癌症例の血液標本と乳癌のない個人の WBC をも十分に収集された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

- 1) Eribulin mesylate-induced c-Fos upregulation enhances cell survival in breast cancer cell lines.
Tanaka S, Ishii T, Sato F, Toi M, Itou J.
Biochem Biophys Res Commun. 2020 May 21;526(1):154-157. doi:

- 10.1016/j.bbrc.2020.03.042. Epub 2020 Mar 19.
- 2) Estrogen Induces Mammary Ductal Dysplasia via the Upregulation of Myc Expression in a DNA-Repair-Deficient Condition.
Itou J, Takahashi R, Sasanuma H, Tsuda M, Morimoto S, Matsumoto Y, Ishii T, Sato F, Takeda S, Toi M.
iScience. 2020 Feb 21;23(2):100821. doi: 10.1016/j.isci.2020.100821. Epub 2020 Jan 9.
- 3) In silico analysis-based identification of the target residue of integrin $\alpha 6$ for metastasis inhibition of basal-like breast cancer.
Tanaka S, Senda N, Iida A, Sehara-Fujisawa A, Ishii T, Sato F, Toi M, Itou J.
Genes Cells. 2019 Jul 11. doi: 10.1111/gtc.12714.
- 4)
- [学会発表](計 10 件)
- 1) 佐藤史顕、佐々木優、小倉信子、山田崇弘、桜井孝規、恒川昭二。
Abemaciclibを含む多剤耐性だがEverolimusで治療効果があったCowden病による転移性乳癌の1例
第28回日本乳癌学会学術総会、(名古屋, web開催) 2020年10月
- 2) 佐藤史顕、佐々木優、小倉信子、古田希、辻なつき、山田崇弘、桜井孝規、恒川昭二
I3K-Akt-mTOR 系に病的遺伝子変異が重積した Cowden 病随伴転移性乳癌の 1 症例。
第 27 回遺伝性腫瘍学会学術総会、(web 開催) 2021 年 6 月 18-19 日
- 3) 佐藤史顕 辻なつき 古田希 鳥嶋雅子 河本泉 小杉眞司 今村正之
Mahvash 病に対する遺伝学的検査の経験
第 28 回遺伝性腫瘍学会学術総会 (姫路, web 開催、2022 年 6 月 17-18 日)
- 4) 佐藤史顕、小倉信子、佐々木優、伊東友好、板垣康、恒川昭二
乳癌術後放射線療法後に発症した器質化肺炎 5 例の検討
第 29 回日本乳癌学会学術総会、横浜(web 開催)、2021 年 7 月 1-3 日
- 5) 佐藤史顕、小倉信子、恒川昭二、古武剛、桜井孝規、川口展子、戸井雅和、柳原一広
カルボプラチンが奏効した RAD51B 変異陽性の転移性トリプルネガティブ乳癌の 1 例
第 30 回日本乳癌学会学術総会、横浜(web 開催)、2021 年 6 月 30 日-7 月 2 日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

[http://kepmri.org/divisions/外科\(神経内分泌腫瘍\)研究部](http://kepmri.org/divisions/外科(神経内分泌腫瘍)研究部) 2017/

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：川島 雅央

ローマ字氏名：Masahiro Kawashima

所属研究機関名：京都大学大学院医学研究科

部局名：乳腺外科学

職名：助教

研究者番号(8桁): 80766676

(2)研究協力者

なし

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tanaka S, Ishii T, Sato F, Toi M, Itou J.	4. 巻 526(1)
2. 論文標題 Eribulin mesylate-induced c-Fos upregulation enhances cell survival in breast cancer cell lines.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 154-157
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.03.042	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 Itou J, Takahashi R, Sasanuma H, Tsuda M, Morimoto S, Matsumoto Y, Ishii T, Sato F, Takeda S, Toi M.	4. 巻 23(2)
2. 論文標題 Estrogen Induces Mammary Ductal Dysplasia via the Upregulation of Myc Expression in a DNA-Repair-Deficient Condition.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 100821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.100821	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 Tanaka S, Senda N, Iida A, Sehara-Fujisawa A, Ishii T, Sato F, Toi M, Itou J.	4. 巻 24(9)
2. 論文標題 In silico analysis-based identification of the target residue of integrin $\alpha 6$ for metastasis inhibition of basal-like breast cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes Cells	6. 最初と最後の頁 596-607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12714	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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤史顕、佐々木優、小倉信子、古田希、辻なつき、山田崇弘、桜井孝規、恒川昭二
2. 発表標題 PI3K-Akt-mTOR系に病的遺伝子変異が重積したCowden病随伴転移性乳癌の1症例
3. 学会等名 日本遺伝性腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤史顕 小倉信子 佐々木優 伊東友好 板垣康 恒川昭二
2. 発表標題 乳癌術後放射線療法後に発症した器質化肺炎 5 例の検討
3. 学会等名 日本乳癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤史顕、佐々木優、小倉信子、山田崇弘、桜井孝規、恒川昭二
2. 発表標題 Abemaciclibを含む多剤耐性だがEverolimusで治療効果があったCowden病による転移性乳癌の1例
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小倉信子、佐々木優、恒川昭二、佐藤史顕
2. 発表標題 腋窩郭清術後の上肢リンパ浮腫に対してリンパ管静脈吻合術 (LVA) を施行した4症例
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 恒川昭二、小倉信子、佐々木優、佐藤史顕
2. 発表標題 異なる治療アプローチをおこなった再発悪性葉状腫瘍の2例
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐々木優、小倉信子、佐藤史顕、恒川昭二、桜井孝規
2. 発表標題 潰瘍を形成したトリプルネガティブ巨大乳癌に対し、パクリタ キセル/ペバシズマブ併用療法が著効した一例
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木曾末厘乃、田中直、佐治重衡、戸井雅和、佐藤史顕
2. 発表標題 乳癌においてVEGFはNRP1/ARHGAP17/Cdc42のネット ワークを通じてfilopodia形成を促進しmigrationを誘導する
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小倉信子、恒川昭二、佐藤史顕
2. 発表標題 乳癌術前術後化学療法時の頭皮冷却療法による脱毛抑制の検討
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊東潤二、高橋玲、松本純明、佐藤史顕、武田俊一、戸井雅和
2. 発表標題 エストロゲンによるMycの発現上昇を介した乳管の異形成の誘導
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中直、佐藤史顕、戸井雅和、伊東潤二
2. 発表標題 エリブリンによるFos発現誘導はトリプルネガティブ乳癌細胞に細胞死抑制を付与する
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019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
研究分担者	川島 雅央 (Kawashima Masahiro) (80766676)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	

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