

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32202
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2021
課題番号：19K17643
研究課題名（和文）EGFR-TKIによる薬剤性肺障害におけるMUC4遺伝子の関与の解明

研究課題名（英文）Drug induced lung disease by MUC4 gene

研究代表者

椎原 淳（Shiihara, Jun）

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：20737241

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤(EGFR-TKI)を用いた際に日本人に高率に発症する重症の薬剤性間質性肺炎のリスクとなる遺伝子を同定する目的で本研究を開始した。MUC4遺伝子のexon2に認められた多型がEGFR-TKIによる薬剤性間質性肺炎の原因遺伝子変異と考えたが、研究を進めるとこの多型は疾患関連塩基配列ではない可能性が高くなった。このため疾患群と健常群のMUC4のexon2の全配列を決定する作業を行い、全ての症例でcos5アレル型が検出されたが、このアレル型はコントロール群でも検出頻度が高く、cos5アレル型の肺障害発症における有意な関連を示すことはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人において致死的な薬剤性間質性肺炎の原因となる遺伝子変異を同定する目的で研究を開始した。これまでの研究でMUC4遺伝子はその原因遺伝子であると考えたため、本研究では、MUC4のexon2における疾患関連遺伝子多型を同定することに注力した。当初認められていた3塩基多型や塩基配列同定により判明したcos5アレルも、症例数や浸透率が原因か、有意とは言えない結果になった。しかしMUC4が薬剤性間質性肺炎に関連している可能性は高いことはこれら研究からも明らかであり、引き続きの研究で日本人特異的遺伝子的特徴の解明につながる事が期待される

研究成果の概要（英文）：We performed this study to clarify the genetic factor in Japanese which cause the fatal interstitial lung disease caused by EGFR-TKI : epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor.

We had studied the exon2 of MUC4 gene. The genetic polymorphism in exon2 of MUC4 gene had been thought to cause the interstitial lung disease, but found to be not in the end.

Next we identify the whole sequence of exon2 of MUC4. We performed the case control study between case group and control group. We found the cos5 allele in the case group, but couldn't prove it to be the cause of the interstitial lung disease.

研究分野：肺癌、間質性肺炎

キーワード：薬剤性間質性肺炎 EGFR-TKI MUC4

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗癌剤、特に上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤(EGFR-TKI)を用いた際に日本人に高率に発症する重症の薬剤性間質性肺炎のリスクとなる遺伝因子は 2002 年にゲフィチニブが上市されて以来不明であり、長らく肺癌診療を行う上での問題になっていた。我々はこれまでの研究で MUC4 遺伝子の exon2 に多型(3 塩基の挿入)を認め、同変異が EGFR-TKI による薬剤性間質性肺炎の原因遺伝子変異と考えていたが、解析を続けた結果この 3 塩基挿入の変異は疾患関連塩基配列ではない可能性が高くなり、薬剤性間質性肺炎の原因となる MUC4 遺伝子におけるリスクシーケンスを同定することが必要であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、日本人に圧倒的に頻度の高い EGFR-TKI による薬剤性肺障害の原因遺伝因子を明らかにすることである。これまでの研究で明らかにした MUC4 遺伝子にその答えがあると考えられ、疾患群が有する MUC4 遺伝子の変異、またはリスクシーケンスとでも言うべき塩基配列を明らかにすることを目的とした。

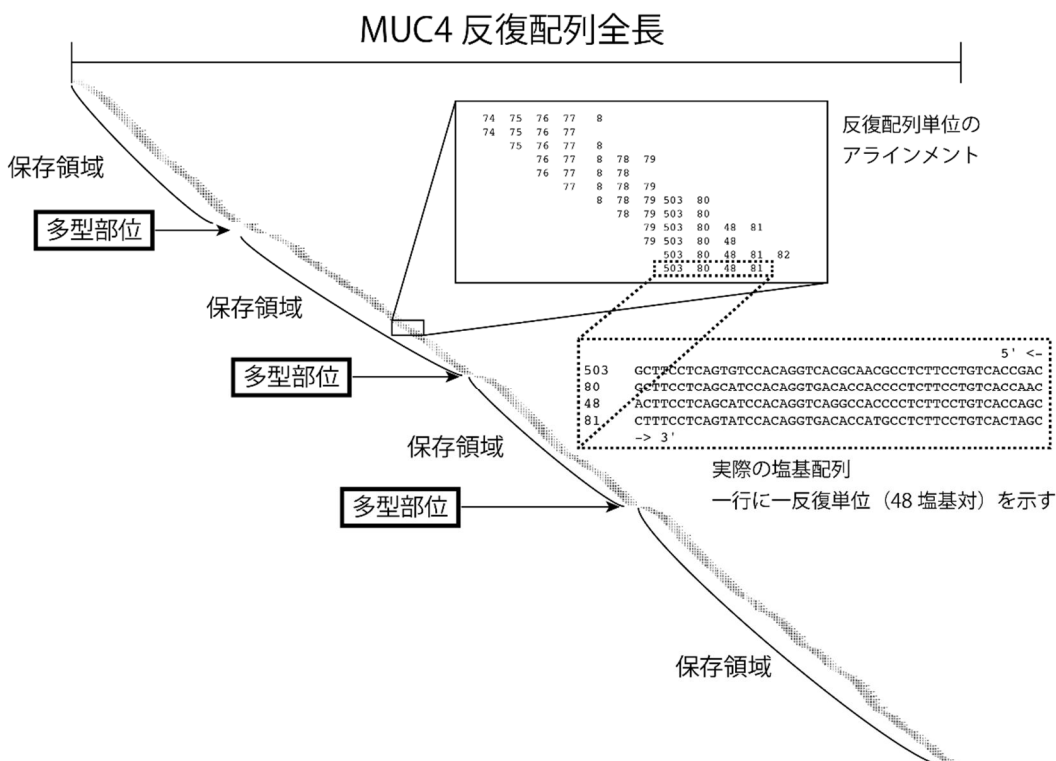
我々は過去の研究(厚生労働省 難治性疾患克服研究事業「特発性肺線維症急性増悪及び薬剤性肺障害に關与する日本人特異的遺伝素因に関する研究」(平成 22~24 年度)研究代表者 萩原弘一)で大規模に EGFR-TKI による薬剤性肺障害患者の血液検体を収集しており、その後は国内でも同一内容の研究は行われていない。劇的な効果を期待して投与した EGFR-TKI により発症する致死の間質性肺炎を回避したいと考えている呼吸器内科医は多く、本研究で EGFR-TKI による薬剤性肺障害のリスクを明らかにし、実臨床に結びつけていきたいと考えている。

3. 研究の方法

EGFR-TKI による薬剤性肺障害の原因遺伝子として我々が候補に上げている MUC4 についての解析を行ったが、リピート配列の全塩基決定の方法として、1. longPCR を行う、2. 断片化(fragmentation kit を用いる)を行う。サイズは 200-300bp 程度を目標とする、3. リピート配列用のライブラリ作成、4. 次世代シーケンサー(MiSeq)を用いて断片化した配列のシーケンスを行う、5. アセンブラ(自治医大 萩原弘一先生がプログラムから自作)を用いてアセンブルする、というステップを踏んだ。さらに疾患関連の配列(リスクシーケンス)を決める作業は、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者と健常人の二群間でコホート内ケースコントロールスタディーを行った。

4. 研究成果

DNA を末梢血から抽出し、MUC4 exon2 とその隣接する配列を、PACBio シーケンス反応を用いて解析し、シーケンスした。また Illumina Miseq を用いて断片化した DNA のシーケンスを行った。それらからの出力ファイルを、専用のプログラムを用いてアラインメントを行った。



塩基配列を解析した結果、MCU4 のアレル型は大きく分けて 6 つに分類されることがわかってきた。その中で我々が cos5 と命名したアレル型には 51 塩基対になっている反復配列が認められており、3 塩基対の挿入変異 (insertion) が存在することを示唆していた。3 塩基対の挿入変異を有する cos5 アレルから生成されるタンパクでは 1 アミノ酸分タンパクが長くなっており、通常の構造と比べて、立体構造が変化している可能性があり、それにより機能変化を生じていると考えられた。

この cos5 アレルについて、引き続きコホート内ケースコントロールスタディーを計画した。アレル型を薬剤性間質性肺炎症例 10 名 (20 アレル), コントロール 88 名 (176 アレル) で、塩基配列を、薬剤性間質性肺炎症例 9 名 (18 アレル), コントロール 86 名 (172 アレル) で決定した。全ての薬剤性間質性肺炎症例で cos5 アレル型が検出されたが、同アレルのコントロール内の集団内頻度が高く、cos5 アレルの存在と肺障害発症との有意な関連を示すことはできなかった。

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

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