

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18057

研究課題名(和文)日本人乳がんの進化様式を鑑みた新しい治療ストラテジーの構築

研究課題名(英文) Establishment of the race specific brand-new therapeutical strategy in Japanese breast cancer

研究代表者

野田 美和 (Noda, Miwa)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：30838123

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)：日本人乳癌の分子遺伝学的特徴、ゲノム進化論的特徴の解明を目的として術前治療未施行、根治手術施行の日本人浸潤性乳管癌10例の検体に対して、全エキソームシーケンシング(WES)を施行した。WESの結果をもとに、遺伝子変異解析、変異シグネチャー解析、染色体・遺伝子レベルのコピー数解析を施行した。公共データベース上の欧米人乳癌940例の解析データと比較し、日本人乳癌特有の可能性のある遺伝子変異、変異シグネチャーを特定した。今後はさらに症例を集積し、日本人乳癌と欧米人乳癌を解析・比較し、日本人乳癌の分子遺伝学的特徴を見出し、治療標的候補となる遺伝子を選出し、機能解析を施行したいと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人乳癌10例の全エキソームシーケンシングを施行後、統合解析を行い、公共データベースの欧米人乳癌の解析データと比較することで、日本人乳癌の分子遺伝学的特徴が明らかになってきた。今後、静岡がんセンターより公表された日本版がんゲノムアトラス(Cancer Science, 2019)の乳癌データを含め、症例数を増やし解析することで、さらに詳細に日本人乳癌の分子遺伝学的特徴が明らかになると考える。その結果が、人種差による乳癌治療薬の反応性・耐性機序解明の端緒になり、今後の日本人乳癌治療の発展につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：In general, genomic aberrations in breast cancer (BC) vary by race, which might explain the difference of clinical features between Japanese BC (JBC) and the Caucasian-American BC (ABC). We corrected 50 samples excised from primary tumors in 10 cases of hormone-positive/HER2-negative JBC, and conducted Whole exome sequencing to identify somatic mutations, mutational signature and copy number aberrations. We compared our data with the TCGA dataset of 940 ABC. We identified JBC specific mutated genes. In terms of signature, signature 7 and 15 were JBC specific traits. Although the limited number of cases, we identified several JBC specific characteristics. Further analyses will be required to conclude the finding definitively.

研究分野：乳腺外科

キーワード：日本人乳癌 多領域検体解析 全エキソームシーケンシング ゲノム進化

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

1) 乳癌診療における現状と臨床的問題点

本邦において乳癌の粗罹患率、年齢調整罹患率はともに女性の癌で第1位である（がん研究振興財団. がんの統計 '16）。乳癌は早期発見・早期治療可能な場合は予後良好であるが、転移・再発を来した場合の生存期間の中央値は28か月であり（J Clin Oncol. 1998）、様々な治療の改良にも関わらず治癒は困難である。現在、乳癌の治療薬として様々な化学療法剤、分子標的剤、内分泌療法剤の臨床試験が海外・国内ともに施行され、標準治療として取り入れられている。しかし、薬物の反応が個人差、または民族によって異なることはよく知られており、海外の臨床データを受け日本の申請資料に用いる際には、民族差を考慮する必要がある。日本人乳癌の遺伝的特徴を明らかにすることで、日本人乳癌に適した治療選択ができる可能性がある。

2) 乳癌診療における人種差の有する意義

乳癌ではアフリカ系アメリカ人はトリプルネガティブ乳癌の割合が多く、日本人乳癌の2-3倍である。その他、年齢調整死亡率、年齢罹患パターン、再発率においても人種差の報告がされている（Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014）。また遺伝子発現やメチル化、遺伝子多型頻度の人種差も報告されており（BMC Res Notes. 2012, cancer bio ther. 2007, J. Clin Pharmacol ther. 2008）、この人種差が治療薬の治療反応性・耐性機構解明の端緒になると期待している。しかし、そのほとんどは欧米における人種差と臨床的相違に関する報告であり、アジア人特に日本人との人種差に注目した研究は少ない。日本人乳癌に特異的な分子遺伝学的特徴、ゲノム進化論的特徴を解明することで日本人乳癌の新たな治療ストラテジーを提言したい。

2. 研究の目的

本研究では、術前治療を施行していない根治手術可能な日本人乳癌10症例の次世代シーケンサーによるゲノム解析を行い、欧米人乳癌のデータと比較することで日本人乳癌の分子遺伝学的特徴、ゲノム進化論的特徴を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

日本人乳癌の遺伝学的特徴の解析について以下の3つのステップで研究を推進する。

1) 検体収集：当科の術前治療を施行していない、根治手術可能な浸潤性乳管癌10例の検体を使用する。各症例、腫瘍組織から3か所以上、正常乳腺組織から1か所検体を採取し、DNAを抽出後、全エクソームシーケンス（WES）を実施する。

2) 日本人乳癌の特徴：当院の乳癌10症例の原発巣多領域分割WESの結果から、①遺伝子変異解析、②変異シグネチャー解析、③染色体・遺伝子レベルのコピー数解析を行う。

3) 欧米人乳癌との比較：日本人乳がんの特徴と治療標的の同定

(1)大規模症例の比較：The Cancer Genome Atlas (TCGA) の欧米人乳癌（白人757例、黒人183例）のデータを使用し、日本人乳癌データと比較し、日本人に多くみられる変異遺伝子やドライバー遺伝子、染色体のアームレベル・遺伝子レベルでのコピー数変化の相違、変異シグネチャーの相違について調べ、日本人乳癌の遺伝学的特徴を解明する。また、人種間における遺伝子多型の違いと本解析で同定した体細胞変異との関係性についても明らかにする。

(2)進化系統樹における比較：当院の乳癌10症例は多領域のWESである。WES結果をもとに進化系統樹を作成する。Oncotarget. 2017の報告も乳癌5症例の多領域塩基配列解読であり、この

2つの結果を日本人乳癌の進化系統樹とする。Yates L. Rらが報告した50例の欧米人乳癌の多領域塩基配列解読の進化系統樹 (Nat Med. 2015) と比較し、日本人乳癌の進化系統の特徴を見出す。特に系統樹の幹でクローナリティが高い、また dN/dS 比 (Cell. 2017) の高いドライバー遺伝子を治療標的候補として選出し上記(1)と照合する。

4. 研究成果

(1) 患者背景

根治手術施行の日本人浸潤性乳管癌 10 例の検体 (正常乳腺 10 サンプル、乳癌組織 50 サンプル) に対して、WES を施行した。患者背景は表 1 に示す。サブタイプは全例 Luminal type で Luminal A 5 例、Luminal B 5 例であった。WES の結果をもとに、スーパーコンピューターSHIROKANE を用いて mutation call を行い、①遺伝子変異解析、②変異シグネチャー解析、③染色体・遺伝子レベルのコピー数解析を施行した。

表 1. 患者背景

No	Age	Histology	T	N	M	NG	ly	v	Subtype	Ki-67
1370	61	IDC, pap-tub	3	0	0	NG3	0	0	Luminal A	15.5
1388	60	IDC, pap-tub	2	2	0	NG1	1	0	Luminal A	15.2
1393	50	IDC, pap-tub/sol-tub/sci	2	0	0	NG2	0	0	Luminal A	18.0
1396	60	IDC, pap-tub	2	1	0	NG1	1	0	Luminal B Her2-	22.3
1399	58	IDC, sol-tub	1c	0	0	NG3	0	0	Luminal B Her2-	62.0
1404	75	IDC, pap-tub	2	0	0	NG2	0	0	Luminal B Her2+	32.3
1412	63	IDC, pap-tub	2	0	0	NG1	0	0	Luminal A	11.8
1416	40	IDC, pap-tub	2	1	0	NG2	0	0	Luminal B Her2-	31.0
1437	50	IDC, pap-tub	2	1	0	NG2	1	0	Luminal B Her2-	28.2
1438	66	IDC, pap-tub	1c	2	0	NG3	1	0	Luminal A	18.5

(2) 遺伝子変異数

本症例が全て Luminal type であったため、欧米人乳癌の Luminal type のみ抽出して比較をおこなった。遺伝子変異数は日本人乳癌、欧米人乳癌ともに Luminal B が A と比較し有意に多く見られた (図 1)。

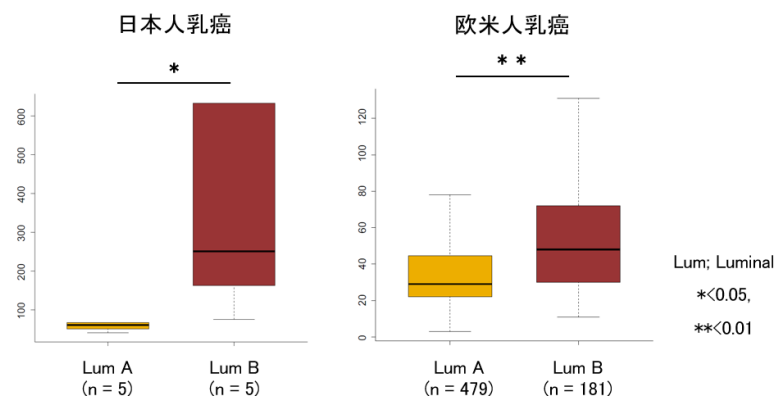


図 1. 日本人乳癌と欧米人乳癌のサブタイプ別の遺伝子変異数

(3) 日本人乳癌の遺伝子変異概要

日本人乳癌で多く見られた遺伝子変異のトップ 50 を図 2 に示す。これら遺伝子の中から、乳癌の Driver 遺伝子とされている遺伝子、かつ日本人乳癌に確認された遺伝子変異を抽出し、欧米人乳癌と出現頻度の割合を比較した (表 2)。PIK3CA、TP53 変異は同程度の割合だったが、MAP3K1、AKT1、SF3B1、RB1 の遺伝子変異は日本人乳癌で高頻度に見られた。

乳癌の Driver 遺伝子以外で日本人乳癌に高頻度で確認された遺伝子変異を抽出し、欧米人乳

癌とその出現頻度を比較した（表 3）。TTN, MUC16, PLEC, PCDH15, HECTD1, LY9, FLG, SLITRK4 の遺伝子変異は日本人乳癌において高頻度にみられた。

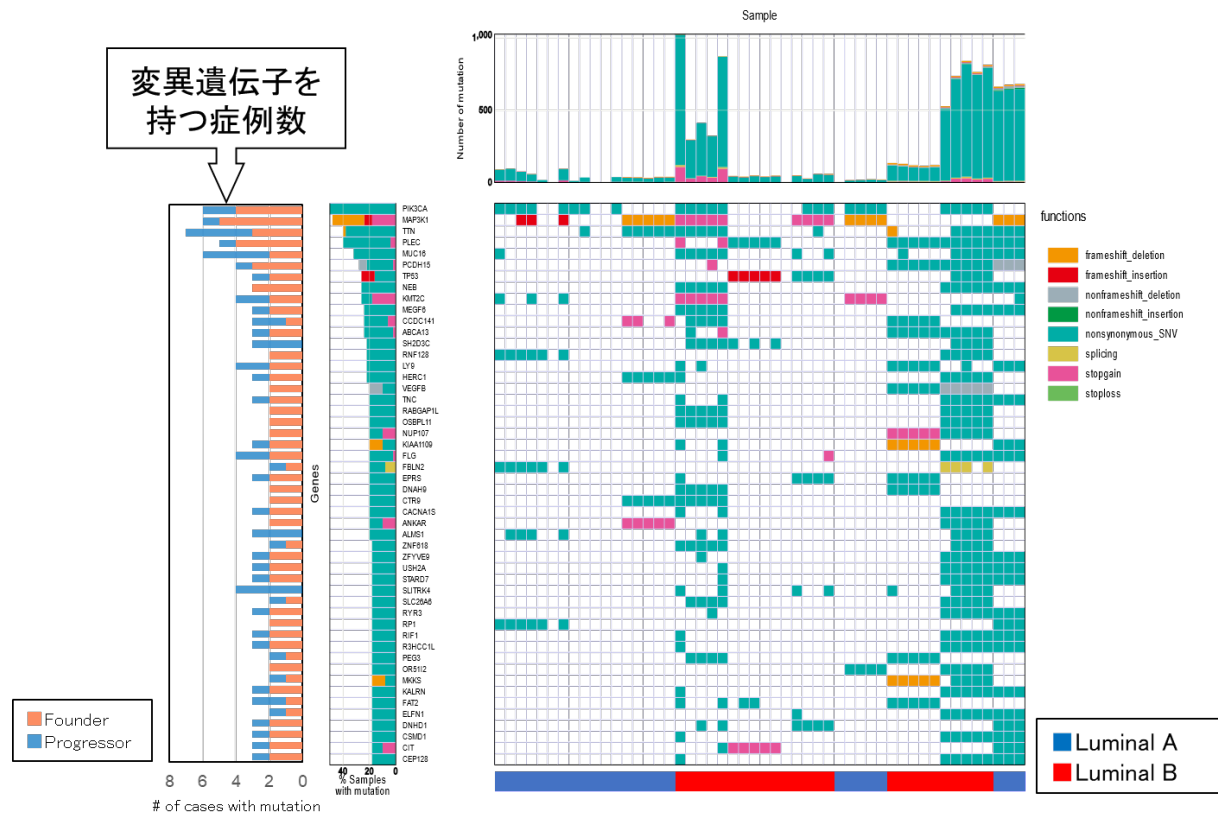


図 2. 日本人乳癌の遺伝子変異の概要

表 2. ドライバー変異の出現頻度

	Public Dataset		Our cohort (n=10)
	Non-Asia (n=826)	Asia (n=29)	
PIK3CA	42.6 %	41.4 %	60 %
TP53	22.4 %	48.3 %	20 %
CDH1	6.5 %	6.9 %	10 %
MAP3K1	11.5 %	3.5 %	40 %
PTEN	3.7 %	0 %	10 %
AKT1	3.8 %	0 %	20 %
SF3B1	3.1 %	3.5 %	20 %
RB1	1.7 %	3.5 %	20 %
ERBB3	2.2 %	6.9 %	10 %
CTCF	2.6 %	6.9 %	10 %
SPEN	1.0 %	0 %	10 %
FOXA1	0.3 %	0 %	10 %
HIST1H3B	0.3 %	0 %	10 %
GNPTAB	0.2 %	0 %	10 %

表 3. ドライバー変異以外の出現頻度

	Public Dataset		Our cohort (n=10)
	Non-Asia (n=826)	Asia (n=29)	
TTN	20 %	18 %	70 %
MUC16	9.7 %	8.8 %	60 %
PLEC	13.7 %	3.5 %	50 %
PCDH15	1.6 %	0 %	40 %
HECTD1	1.0 %	5.3 %	40 %
LY9	0.8 %	0 %	40 %
FLG	5.3 %	5.3 %	40 %
SLITRK4	0.7 %	1.8 %	40 %

(4) 変異シグネチャー解析

日本人乳癌 10 症例と Public data の欧米人乳癌の変異シグネチャー解析結果を図 3 に示す。日本人乳癌と欧米人乳癌の変異シグネチャーを平均し比較したところ、Signature 5, 7, 8, 15, 17, 18, 20, 26, 30 は日本人、欧米人乳癌で差を認めた。このうち、Signature7, 15 は日本人のみに確認された変異シグネチャーであった。

(5) 進化系統樹解析

日本人乳癌と欧米人乳癌 (nature med, 2015) の進化系統樹を比較したところ (図 4)、いずれもドライバー遺伝子変異は幹に認めた。

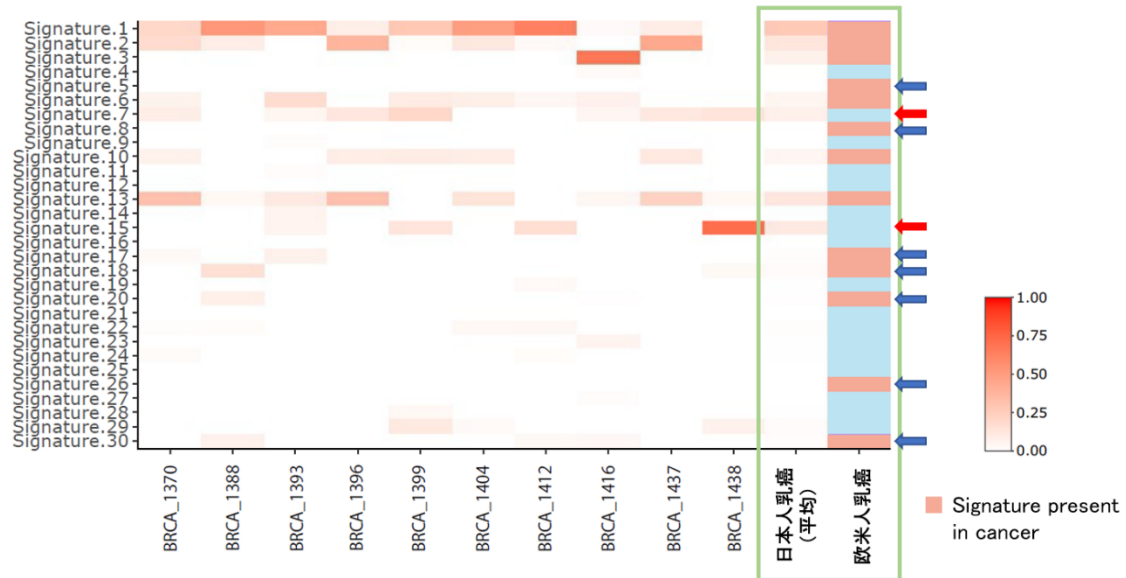


図3. 日本人乳癌と欧米人乳癌の変異シグネチャーの比較

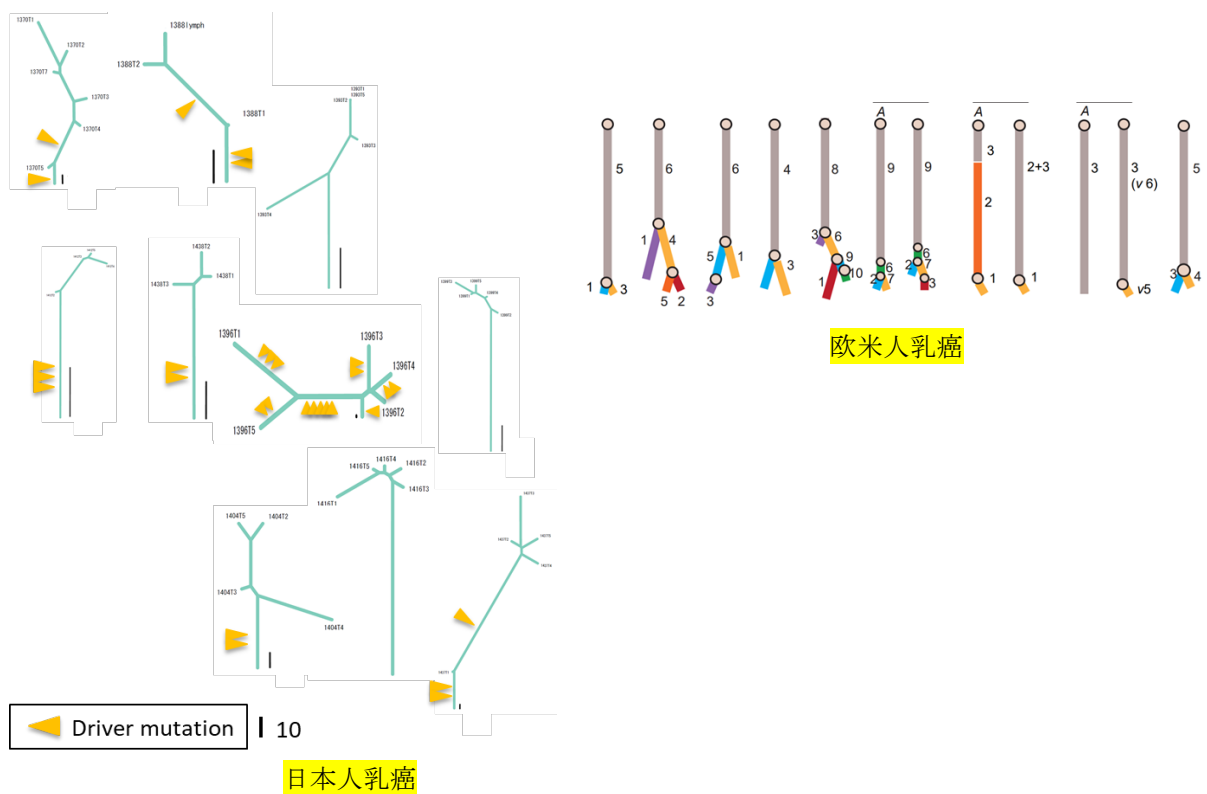


図4. 日本人乳癌と欧米人乳癌の進化系統樹の比較

(6) 今後の展望

静岡がんセンターより公表された日本版がんゲノムアトラス (Japanese version of the Cancer Genome Atlas) (Cancer Science, 2019)の乳癌データ、欧米人として、Yates L. Rらが報告した乳癌の多領域検体解析データ (Nat Med. 2015)、公共データベース TCGA 乳癌データを使用しさらに症例数を増やし解析する。日本人乳癌および欧米人乳癌の解析データを比較し、日本人乳癌の分子遺伝学的特徴を見出す。特に系統樹の幹でクローナリティが高い、また dN/dS 比 (Cell. 2017) の高い遺伝子を治療標的候補として選出する。最終的には治療標的候補として選出された遺伝子の機能解析まで施行したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masuda T, Noda M, Kogawa T, Kitagawa D, Hayashi N, Jomori T, Nakanishi Y, Nakayama KI, Ohno S, Mimori K.	4. 巻 111(3)
2. 論文標題 Phase I dose-escalation trial to repurpose propagermanium, an oral CCL2 inhibitor, in patients with breast cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 924-931
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14306.	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 Noda M, Masuda T, Ito S, Tobo T, Kitagawa A, Hu Q, Shimizu D, Eguchi H, Etoh T, Ohno S, Inomata M, Mimori K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Circulating PD-1 mRNA in Peripheral Blood is a Potential Biomarker for Predicting Survival of Breast Cancer Patients.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1245/s10434-020-08375-z.	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 Masuda T, Ueo H, Kai Y, Noda M, Hu Q, Sato K, Fujii A, Hayashi N, Tsuruda Y, Otsu H, Kuroda Y, Eguchi H, Ohno S, Mimori K, Ueo H.	4. 巻 21(2)
2. 論文標題 N-Cadherin mRNA Levels in Peripheral Blood Could Be a Potential Indicator of New Metastases in Breast Cancer: A Pilot Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 511
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21020511.	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 Masuda T, Noda M, Kitagawa A, Hu Q, Fujii A, Ito S, Kosai K, Ando Y, Matsumoto Y, Ohtsu H, Uchida H, Ohno S, Mimori K.	4. 巻 40 (7)
2. 論文標題 The Expression Level of PD-L1 (CD274) mRNA in Peripheral Blood Is a Potential Biomarker for Predicting Recurrence in Breast Cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 3733-3742
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.14362.	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10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安東由貴、増田 隆明、野田 美和、大津 甫、武石 一樹、米村 祐輔、三森 功士
2. 発表標題 日本人乳癌の全エキソームシーケンス解析
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 増田隆明、上尾 裕紀、甲斐 裕一郎、野田 美和、大野 真司、三森 功士、上尾 裕昭
2. 発表標題 転移の増悪形式（新規病変の出現あるいは既存病変の増大）を予測する血中バイオマーカーの同定
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野田美和、増田隆明、北川彰洋、藤井昌志、清水大、吉川幸宏、鶴田祐介、大津甫、黒田陽介、江口英利、猪股雅史、三森功士
2. 発表標題 日本人乳癌の分子遺伝学的特徴の検討
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野田美和、増田隆明、古川孝弘、大野真司、猪股雅史、三森功士
2. 発表標題 転移抑制薬SK-818の乳癌原発巣における免疫賦活作用の可能性
3. 学会等名 第40回癌免疫外科研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鶴田祐介、増田隆明、林直樹、野田美和、大津甫、黒田陽介、江口英利、三森功士
2. 発表標題 Bevacizumab療法中に腋窩動脈出血を来した再発乳癌の1例
3. 学会等名 第55回九州内分泌外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野田美和、増田隆明、北川彰洋、鶴田祐介、藤吉健児、田中文明、猪股雅史、三森功士
2. 発表標題 日本人乳癌の分子遺伝学的特徴の解明
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田隆明、野田美和、古川孝弘、大野真司、三森功士
2. 発表標題 転移抑制薬SK-818の第1相医師主導型治験とその探索的研究より示唆される免疫賦活効果の可能性
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小斉啓祐、増田隆明、野田美和、鶴田祐介、松本佳大、大津甫、内田博喜、森正樹、三森功士
2. 発表標題 乳癌患者における予後予測バイオマーカーとしての血中circulating PD-1
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野田美和、増田隆明、北川彰洋、鶴田祐介、松本佳大、大津甫、内田博喜、古川孝広、猪股雅史、三森功士
2. 発表標題 乳癌に対する肝炎治療剤SK-818の免疫活性化剤としての可能性
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田隆明、野田美和、胡慶江、佐藤晋彰、藤井昌志、林直樹、鶴田祐介、松本佳大、大津甫、内田博喜、三森功士
2. 発表標題 末梢血中のN-cadherin発現は乳癌における新規転移の予測マーカーである
3. 学会等名 第77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
---------------------------	-----------------------	----

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