

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：63801

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22750

研究課題名（和文）乳癌におけるタンパク質機能を低下させるhypomorph変異の検出法開発

研究課題名（英文）Development of detection method for hypomorph mutations in breast cancer-associated genes

研究代表者

秦 千比呂（Hata, Chihiro）

国立遺伝学研究所・生命情報・DDBJセンター・特任研究員

研究者番号：70870971

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は乳癌における高精度なhypomorph変異予測モデルを構築を目的とした。日本人乳癌研究では最大規模であるJapanese Genotype-phenotype Archiveにて公開されている7,104例の乳癌患者および23,731例の健常者のシーケンサーデータをGATKパイプラインにて解析し、変異リストを得た。得られた変異リストに機能アノテーションを付与し、hypomorph変異の検出を行った。病原変異が検出されている患者群、病原変異が検出されていない患者群および非罹患者群の3群でhypomorph変異の分布を比較し、hypomorph変異と疾患の関連を評価した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により効果不明であるために診断や疾患リスク予測に利用されていないVUSsの活用の可能性を示した。次世代シーケンサーの発展によって複数の遺伝子を対象とした網羅的な病原変異の検出が可能となり、約10-15%程度の乳癌患者において病原変異が検出されるようになった。しかし、約30%の患者において検出されるVUSsについては臨床的意思決定に利用されていない。よって、生殖系列におけるVUSs中に存在するhypomorph変異の機能解析をさらに進めることで、疾患リスク予測やPARP阻害剤など標的治療の対象となる患者を適切に選択することが可能となり、臨床的に有用な情報を提供できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to construct a highly accurate prediction model for germline hypomorph mutations in 11 breast cancer predisposition genes. We used the largest sequence data set for breast cancer in the Japanese Genotype-phenotype Archive. We performed variant calling for the genes in 7,104 breast cancer patients and 23,731 controls who were 60 years old or over and do not have past history nor family history of cancers. The variants were classified into pathogenic mutations (mainly nonsense mutations and short indels), variants of uncertain significance (VUS), and benign variants. Among the VUS, we selected hypomorph mutations based on the prediction model developed in this study. The frequency distribution of hypomorph mutations was compared among three groups: i) a group of patients with pathogenic variants, ii) a group of patients without pathogenic variants, and iii) a group of controls. Then, we evaluated the association between hypomorph mutations and breast cancer.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 hypomorph変異 VUS

1. 研究開始当初の背景

BRCA1/2 等の乳癌関連遺伝子を対象とした網羅的な遺伝子検査法が開発され、乳癌の病原変異が多数検出されてきた。一方で疾患との関連が不明な変異 (VUSs: variants of uncertain significance) も数多く検出されてきた。VUSs の大部分は遺伝子機能に影響を及ぼさない低頻度なミスセンス変異であるが、その一部には遺伝子機能に影響を及ぼし、疾患リスクになり得る hypomorph 変異 (活性の低下した変異型の遺伝子産物を発現させる遺伝子変異) が含まれていると考えられている。しかし、正確な判別法がないために現在の疾患関連解析では考慮されず、データベースにも VUSs の情報は積極的に蓄積されていない。本研究では変異に対する機能アノテーション情報と機能解析実験の測定値を機械学習で統合し、高精度な hypomorph 変異予測モデルを構築することでこれまで病原変異が特定されず分子標的薬の適用とならなかった患者に新たな治療の可能性を提示できると考えた。

2. 研究の目的

Hypomorph 変異検出法の精度が低いと偽陽性や偽陰性検出につながり、被験者に不利益をもたらすことが懸念されるため、高精度な hypomorph 変異検出法の確立が求められる。そこで、本研究では機能アノテーション情報と機能解析実験で得られた測定値を機械学習によって統合することで高精度な検出法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

日本人乳癌研究で最大規模である Japanese Genotype-phenotype Archive にて公開されている 7,104 例の乳癌患者および 23,731 例の非がん患者のターゲットシーケンスデータの解析を実施し、高精度な hypomorph 変異予測モデルの構築を実施した。対象遺伝子はがんに関する代表的なガイドラインである NCCN ガイドラインで乳癌ハイリスク遺伝子として報告されている 11 遺伝子 (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PTEN*, *STK11*, *P53*) とした。変異リスト作成のために、まず 1000 Genomes や gnomAD で頻度が 1% 以上の変異を除外し、ナンセンス、スプライスサイト、挿入欠失変異は病原変異に分類した。また、ミスセンス変異については ClinVar にて有害度が報告されている場合はそれを採用し、ClinVar にて VUS となっている、もしくは報告がない変異を VUS とし、構築した hypomorph 変異検出パイプラインに供した。BRCA1、BRCA2、PTEN など多くの乳癌関連遺伝子では細胞株に VUS を導入し、機能解析実験を実施することで VUSs の機能評価を行う研究が世界的に進められている。これらの結果を本研究のパイプラインに組み込むことで hypomorph 変異検出の精度を向上させた。病原変異が検出されている患者群、病原変異が検出されていない患者群および非罹患患者群の 3 群で検出された hypomorph 変異の分布を比較し、統計検定を行うことで hypomorph 変異が疾患に関連するか評価した。

4. 研究成果

構築した hypomorph 変異予測モデルを用い、日本人最大規模である乳癌患者データにおいて hypomorph 変異を同定した。複数の遺伝子では乳癌患者において hypomorph 変異の頻度が統計的に有意に高く、乳癌発症リスクと関連していることが分かった。今後、構築した変異予測モデルで検出された hypomorph 変異の機能解析実験による検証を進めることで、こ

れまで病原変異が特定されず分子標的薬の適用とならなかった患者に新たな治療の可能性を提示できると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Chihiro Hata
2. 発表標題 Exploring disease-associated variants by multigene panel testing in Asian breast cancer patients
3. 学会等名 ROIS/I-URIC Young Researchers Crosstalk 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Chihiro Hata, Hirofumi Nakaoka
2. 発表標題 Exploration of hypomorphic variants from VUS in multigene panel testing for Japanese breast cancer patients
3. 学会等名 The Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秦千比呂, 中岡博史
2. 発表標題 乳癌ハイリスク遺伝子を対象としたhypomorphic変異の探索
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会・第28回日本遺伝子診療学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秦千比呂
2. 発表標題 個人ゲノム解析が可能にした乳癌のhypomorph変異検出
3. 学会等名 2021年日本バイオインフォマティクス学会年会・第10回生命医薬情報学連合大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秦千比呂, 中岡博史
2. 発表標題 日本人乳癌患者ゲノムデータを用いたhypomorph変異の探索
3. 学会等名 2021年日本バイオインフォマティクス学会年会・第10回生命医薬情報学連合大会
4. 発表年 2021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