

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16898

研究課題名(和文)日本人の眼瞼基底細胞癌の網羅的ゲノム解析で明らかにする既存薬物の有効性

研究課題名(英文) Predicting drug response for basal cell carcinoma by comprehensive genomic analysis.

研究代表者

秋山 雅人(Akiyama, Masato)

九州大学・医学研究院・講師

研究者番号：10757686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：眼瞼基底細胞癌24例の血液と腫瘍検体のエクソームシーケンスを実施した。関連遺伝子の検証では、既知の3遺伝子に加えて過去に報告のない11遺伝子に多重検定補正後も有意な関連を認めた。新規遺伝子には12例(50%)に非同義体細胞変異を認め、そのうち9例で同定された変異は機能欠失型変異であった。18サンプル(67%)でヘッジホックシグナル伝達経路に属する遺伝子のいずれかに体細胞変異を認め、眼瞼部の基底細胞癌においても主要な遺伝子であると考えられた。Vismodegib反応性に影響することが知られている、SMO遺伝子の変異は7例で同定されたが、薬剤抵抗性が報告されているものではなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、日本人の眼瞼部基底細胞癌を対象とした初の網羅的ゲノム解析である。主要ながん遺伝子は、1) 近年、眼部に発生する悪性腫瘍は同一の組織型であっても体細胞変異プロファイルが異なることが報告されているが、過去の眼瞼部に限定しない研究と類似していること、2) 海外から報告された結果と類似していることを示した一方で、過去に報告のない一つの遺伝子の関連を明らかにした。また、対象者数は少ないものの、vismodegibに抵抗性が知られている変異は本研究では同定されないことを確認した。

研究成果の概要(英文)：We performed exome sequencing on blood and tumor samples from 24 cases of basal cell carcinoma (BCC) of the eyelid. In addition to the three known BCC-associated genes, we found a significant association of a novel gene, even after multiple testing corrections. The non-synonymous somatic mutations in the newly identified gene were detected in 12 samples (50%). Of these, nine were loss-of-function mutations. The somatic mutations in genes belonging to the Hedgehog signaling pathway were detected in 18 samples (67%), suggesting their significance as major genes in BCC of the eyelid. Although some mutations in SMO gene were known to affect responsiveness to vismodegib, the detected mutations in the present study had not been reported to be associated with response to vismodegib.

研究分野：眼腫瘍学

キーワード：がんゲノム 悪性腫瘍 ゲノム医療 薬理遺伝学 次世代シーケンス

## 1. 研究開始当初の背景

- ・ **臨床的背景**：基底細胞癌 (Basal cell carcinoma; BCC) は、重層扁平上皮の基底細胞に由来する悪性腫瘍であり、約 2 割が眼瞼部に発生する。眼瞼脂腺癌と並んで頻度が高く、眼科領域における主要な悪性腫瘍である。一方、人口 10 万人あたりの罹患が 6 例未満で定義される“**希少がん**”であると考えられており、その希少性から対応可能な施設が限られ、**発見が遅れ進行した状態で診断される**こともある。高齢者に多く、遠隔転移やリンパ節転移を来すことは稀であり、治療は原則として外科的切除が行われる。しかし、術後再発や眼窩内浸潤を来すことがあり、眼窩内容除去術など拡大切除による侵襲的治療が必要となる。近年、SMO の阻害を介するヘッジホッグシグナル伝達経路の阻害剤である、Vismodegib の進行基底細胞癌に対する有効性が報告されており、眼瞼部の進行 BCC においても 67% で治療反応がみられ **29% で寛解**が得られたと報告されている (Ishai et al. *JAMA Ophthalmol.* 2020)。
- ・ **遺伝学的背景**：古くから、*PTCH1* 遺伝子異常が原因のメンデル遺伝病である Gorlin 症候群で BCC の発生が多いことが知られており、発生や発がんに関係することが知られるヘッジホッグシグナル伝達経路に関する *SMO* や *SUFU* などの遺伝子異常が発がんに関係することが報告されている。網羅的なゲノム解析の結果として、スイスのグループが、293 例の BCC に対してシーケンス解析を実施しており、1) BCC は、他の癌種と比較し最も遺伝子変異の頻度が高いこと、2) 85% の症例でヘッジホッグシグナル伝達経路に属する遺伝子 (*PTCH1*, *SMO*, *SUFU*) に異常が認められること、が明らかとなっている (Bonilla et al. *Nat Genet* 2016)。一方、vismodegib の治療反応に *SMO* の体細胞異常が関わることが知られており、**vismodegib 結合部位の遺伝子異常があると、有効性が低い**ことが報告されている (Sharp et al. *Cancer Cell* 2015)。また、近年では、BCC に対する免疫チェックポイント阻害剤の有効性が示唆されており、同薬剤は**遺伝子異常数が多いほど有効**である (Yarchoan et al. *New Engl J Med* 2017)。vismodegib 反応不良と思われる BCC でも、変異数が多ければ免疫チェックポイント阻害剤が有効である可能性があり、日本人の眼瞼 BCC における遺伝子異常数の評価が必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、BCC のエクソームによる網羅的がんゲノム解析を行い、1) 日本人の眼瞼部 BCC の発がんに関わる遺伝子異常プロファイル、2) ゲノム情報から示唆される既存薬剤への応答性について明らかにし、**眼瞼 BCC のがんゲノム情報に基づいた個別化医療のための基盤を構築**することを目的とした。

### 3 . 研究の方法

- 1) 研究参加者の収集：九州大学病院眼科を含む検体収集機関を受診した BCC 患者に研究説明を行い、同意取得する。
- 2) 手術検体の収集：手術組織は、日本病理学会 ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程に従う。手術により切除された検体から病理検査に影響しない範囲で手術室にて腫瘍組織を摘出し、匿名化し九州大学に送付する。また、エクソームシーケンスの腫瘍由来 DNA との比較のために、採血により血液検体を取得する。
- 3) DNA の抽出と品質評価：九州大学にて腫瘍組織から、DNA/RNA を抽出する。抽出には、市販のキットを用いる。得られた DNA/RNA は、九州大学眼科の冷凍庫にて保管される。DNA については、電気泳動で分解度を確認し、picogreen で定量化する。
- 4) ライブラリ作成とシーケンス：ライブラリ作成とシーケンスは、外部委託により実施する。DNA はエクソームシーケンスを行い、シーケンスで得られた結果は、FASTQ 形式で返却される。
- 5) シーケンスデータ解析：九州大眼科が所有する計算サーバーを用いて、体細胞変異やコピーナンバー数異常を検出し、原因遺伝子を特定する。一塩基変異や indel は mutect2 を用いたパイプラインでコールする。シーケンスエラーをコントロールするため、別研究で得られた 173 名について実施したエクソームシーケンスの結果を用いて Panel of Normals (PON) を作成する。dndscv を用いて関連する遺伝子について統計学的に検証する。
- 6) 治療薬物候補の検索：DGIdb データベース(Griffith et al., *Nat. Methods.*, 2013), canSAR (Coker et al. *Nucleic Acid Res.*, 2018)を参照し、得られたがんゲノム情報に基づいて、有効性が示唆される既存治療薬物の検索を行う。
- 7) 臨床表現型の関連解析と薬剤応答性の検証：5)で取得したがんゲノム情報と腫瘍病型や深部浸潤など臨床表現型の関連を評価する。また、SMO 遺伝子変異について、タンパク立体構造解析を行い、vismodegib 結合部位との位置的關係を評価する。

### 4 . 研究成果

研究期間に、眼瞼基底細胞癌 24 例の血液と腫瘍検体のエクソームシーケンスを実施した。dndscv を用いた関連遺伝子の検証では、既知の 3 遺伝子 (*PTCH1*, *ARID1A*, *PTPN14*)に加えて過去に報告のない 1 遺伝子に多重検定補正後も有意な関連を認めた。新規遺伝子には 12 例 (50%)に非同義体細胞変異を認め、そのうち 9 例で同定された変異はストップコドンやフレームシフトなどの機能欠失型変異であった。18 サンプル (67%)でヘッジホッグシグナル伝達経路に属する遺伝子(*PTCH1*, *SMO*, *SUFU*)のいずれかに体細胞変異を認め、眼瞼部の基底細胞癌においても主要な遺伝子であると考えられた。データベースの検索では基底細胞癌を対象として開発された薬剤が確認された。Vismodegib 反応性に影響することが知られている、*SMO* 遺伝子体細胞遺伝子変異は 7 例で同定されたが、薬剤抵抗性が報告されているものではなか

った。

本研究は、日本人の眼瞼部基底細胞癌を対象とした初の網羅的ゲノム解析である。主要ながん遺伝子は、1) 近年、眼部に発生する悪性腫瘍は同一の組織型であっても体細胞変異プロファイルが異なることが報告されているが、過去の眼瞼部に限定しない研究と類似していること、2) 海外から報告された結果と類似していることが示された一方で、過去の研究で報告のない一つの遺伝子の関連を明らかにした。また、対象者数は少ないものの、vismodegib に抵抗性が知られている変異は本研究では同定されないことを確認した。今後、より大規模な解析を行うことで日本人や眼瞼部の基底細胞癌の特徴が明らかになる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 秋山 雅人
2. 発表標題 眼腫瘍領域におけるオミクス研究と診療への活用
3. 学会等名 第39回日本眼腫瘍学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋山 雅人, 左野裕介, 田邊美香, 舩津治彦, 藤井裕也, 関瑛子, 吉川洋, 園田康平
2. 発表標題 日本人眼瞼基底細胞癌のエクソームシーケンス
3. 学会等名 第39回日本眼腫瘍学会
4. 発表年 2022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
---------	---------