

No.	22-1013	
研究課題名	新規家族性乳がん感受性遺伝子の同定を通じた新規診断法の確立	
研究代表者	片桐 豊雅（徳島大学・教授）	
研究組織	受入教員	古川 洋一（東京大学医科学研究所・教授）
	分担者	松下洋輔（徳島大学先端酵素学研究所・助教）

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告 種別を選択▼

家族性乳がんの原因遺伝子としてはこれまでに、DNA損傷の相同組み替え修復に重要なBRCA1/2やTP53, PTENなどが同定されているが、未だ原因遺伝子の不明な症例も存在することから、それらの同定とその発症メカニズムの解明が課題となっている。申請者はこれまでに家族性乳がん24家系84人の生殖細胞系列の全エクソーム解析 (WES) から、25個の候補遺伝子を同定し、データベースを用いたリスク予測や、がんにおける各遺伝子の機能解析を通じて、frameshift deletionを認めたNFKBパスウェイの活性調節因子の一つである GeneAについて機能解析を行った。

その結果、乳癌細胞株にGeneAの野生型を過剰発現させると細胞増殖が抑制されたのに対し、frameshift deletion変異体の過剰発現は細胞増殖抑制能の消失を示した。さらに 既知相互作用タンパク質との結合の消失を確認した。以上のことから、本解析より見出したGeneAは家族性乳がんにおける新規乳がん感受性候補遺伝子であることが示唆された。今後はプロモーター領域におけるメチル化も解析することで、LOH (Loss of Heterozygosity) の有無を検証するとともに、ロングリードでの解析も行い、ショートリードでは検出が困難であったSV等を評価し、癌化への寄与を検討する予定である。

また、本解析で認められた変異には、NCCN (National Comprehensive Cancer Network) ガイドラインで単一検査遺伝子として明記されている既知遺伝子群 (BRCA1/2, TP53) も含まれていたが、そのうちのいくつかはリスク不明な遺伝子変異 (VUS: Variant of uncertain significance) であったことから、本年度はVUSのリスク評価も行った。BRCA1変異は5家系に認められ、そのうち3家系で検出されたバリエーションがVUSであった。BRCA1は様々な機能を有しているが、中でもDNA二本鎖切断の修復機構の一つである相同組換え (HDR: Homology-directed repair) 修復に中心的な役割を果たすことが知られている。そのため、これらのVUSについてHDRに対する影響を評価したところ、3つのVUSはいずれもHDR活性を保持していることを明らかにした。BARD1はNCCNのガイドライン上の遺伝子群には含まれていないものの、細胞内BRCA1の多くはBARD1とRINGフィンガードメイン同士で結合し、二量体型のユビキチンリガーゼを形成することが知られている。BARD1変異は3家系で認められ、そのうち2つがVUSで、もう1つはRINGフィンガードメイン内のミスセンス変異であった。そのため、BARD1の3つの変異に値してもHDR活性を測定したところ、全て野生型と同等の活性を保持していることが観察された。さらにRINGフィンガードメイン内に認めたミスセンス変異について、ユビキチンリガーゼ活性も評価したが、野生型と比較し変化は認められなかった。以上のことから、今回の解析で同定されたBRCA1の3つのVUSやBARD1の3変異についてはいずれも野生型と同等の機能を有していることが推測された。今後はBRCA2において認めた2つのVUSについても同様に評価していく予定である。

一方、乳癌のサブタイプの一つで、異質性と悪性度が高く、治療には主に化学療法が用いられるが、抵抗性の出現から予後不良となることの多いTNBC (Triple Negative Breast Cancer) に関して、化学療法抵抗性の分子機構解明を目的として、36症例のTNBC標本を用いてWES解析を行った。その結果エピジェネティック関連遺伝子に55.6%で変異を認め、特にrecurrentな変異を有していた4遺伝子についてはSanger sequenceもしくはdeep sequenceを行うことで変異頻度も検証した。中でも我々はrecurrentな変異を持つ遺伝子に関して発現解析を行い、高頻度かつ顕著な発現低下を生じていたSALL3に着目した。興味深いことに、SALL3の発現低下はプロモーター領域のメチル化に起因しており、タキサン系抗がん剤への抵抗性に関与していることを明らかにした。その分子機構解明のための詳細な解析から、SALL3は転写因子としてがん抑制遺伝子であるDMBT1の転写活性化に関与すること、SALL3の発現抑制はDMBT1タンパク質の分泌低下に繋がり、結果としてNF-kB経路の活性化を通じて、化学療法抵抗性を促進することも明らかにした。

以上のことから、SALL3はTNBCの悪性化に関与する新規腫瘍抑制遺伝子であることが示唆された。