

胆道がんの「ゲノム医療」に貢献

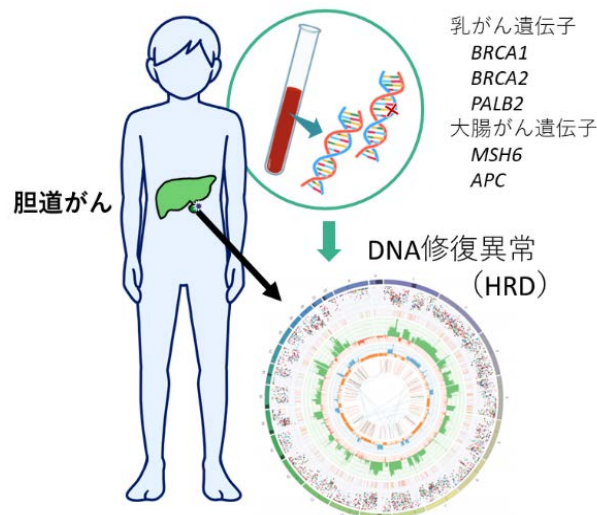
一乳がん、大腸がんの原因遺伝子や DNA 修復異常が発がんに関与一

理化学研究所（理研）生命医科学研究センターがんゲノム研究チームの大川裕貴研修生（北海道大学大学院医学院博士課程）、中川英刀チームリーダー、基盤技術開発研究チームの桃沢幸秀チームリーダー、北海道大学大学院医学研究院消化器外科学教室 II の平野聡教授、中村透助教らの共同研究グループは、胆道がん患者の DNA を解析し、胆道がんの原因遺伝子・発症リスク・臨床的特徴について明らかにしました。

本研究成果は、胆道がんの診断や患者一人一人に合った治療、リスク診断、予防を行う「ゲノム医療」に貢献すると期待できます。

今回、共同研究グループは、北海道大学病院とバイオバンク・ジャパン^[1]で収集した 1,292 例の胆道がん患者のゲノムを解析し、遺伝性乳がん卵巣がん（HBOC）^[2]の原因遺伝子である *BRCA1/2* と *PALB2*、遺伝性大腸がんの原因遺伝子である *MSH6* と *APC* の病的バリエーション^[3]が、胆道がんの発生と関連することを見いだしました。これら五つの遺伝子は DNA 修復機構で働いていることから、胆道がん組織の全ゲノムシーケンス解析^[4]を行ったところ、DNA 修復異常（相同組換え修復欠損：HRD^[5]）によって蓄積したゲノムの“傷跡”が検出され、HRD が胆道がんの治療標的になる可能性が示されました。

本研究は、医学雑誌『*Journal of Hepatology*』オンライン版（10月12日付）に掲載されました。



遺伝性の乳がん卵巣がんと大腸がんの原因遺伝子の病的バリエーションが DNA 修復異常に関与

背景

胆道は、肝臓で産出された胆汁を十二指腸へ輸送、または蓄える器官（胆嚢）です。その上皮細胞から発生した悪性腫瘍が胆道がんであり、発生部位によって、肝内胆管がん、肝門部胆管がん、遠位胆管がん、フアーター乳頭部がん¹⁾、胆嚢がんなどに大きく分類されます。これらの部位によって、発症リスクや悪性度、予後などの生物学的特性が異なり、また外科手術などの治療法も変わります。

胆道がんは世界的にみるとまれですが、日本やアジアにおいては発生頻度が高く、日本では2017年に年間約22,500人が発症、約18,000人が死亡しており、6番目に死亡数が多いがん腫です^{注1)}。長期生存が唯一期待できる治療法は外科的切除だけですが、胆道がんは転移や浸潤能が非常に高く、周囲に重要な血管が多数ある複雑な部位に発生するため根治的手術は困難です。日本肝胆膵外科学会のデータでは、胆道がんの切除率は約70～95%と報告されていますが、大規模病院に限られたデータのため、実際にはこの数値よりも低いと予想されます。外科切除不能例や再発時に有効な化学療法や分子標的治療は少なく、5年生存率はわずか27%と極めて難治性のがんです^{注2)}。

胆道がんの発生には、胆石症や慢性胆のう炎、胆管炎、いくつかの化学物質の暴露がリスク因子と考えられています。また、遺伝性乳がん卵巣がん（HBOC）などの遺伝性腫瘍においても、胆道がんが発生することが報告されており、遺伝因子が重要な発生要因と考えられます。共同研究グループは、大規模な横断的がんゲノム疫学解析により、日本人では、HBOCの原因遺伝子であるBRCA1/2が、乳がん卵巣がんのほかに胆道がん、胃がん、食道がんの発生と関連することを発表しました^{注3)}。本研究では、胆道がんに焦点を絞って、さらなる解析と研究を進めました。

注1) 国立がん研究センターがん情報サービス「がん統計」
https://ganjoho.jp/public/qa_links/report/statistics/index.html

注2) 日本消化器病学会編『消化器難治癌シリーズ—胆道癌』

注3) 2022年4月15日プレスリリース「10万人以上を対象としたBRCA1/2遺伝子の14がん種を横断的解析」
https://www.riken.jp/press/2022/20220415_1/index.html

研究手法と成果

共同研究グループは、北海道大学病院とバイオバンク・ジャパンにより収集された胆道がん患者1,292人および対照群37,583人の血液または正常組織DNAを、理研が独自に開発したゲノム解析手法^{注4)}を用いて解析しました。解析対象は、米国国立包括がんネットワーク（NCCN）ガイドラインで検査が推奨されている12遺伝子、および研究開始当時に遺伝性がんパネル^{注5)}で検査対象となっていた25遺伝子から選抜した15遺伝子の計27個の遺伝性腫瘍関連遺伝子としました。

解析の結果、5,018個の遺伝的バリエーション^[3]を同定しました。さらに、これらの遺伝的バリエーション一つ一つを米国臨床遺伝・ゲノム学会（ACMG）^{注6)}および分子病理学会（AMP）^{注7)}が作成したガイドラインや、国際的データベースであ

る ClinVar^{注8)} の情報に基づいて、病的バリエーションか否かを評価しました。その結果、317 個の遺伝的バリエーションが病的バリエーションであると判定されました。

注4) 2016年11月11日プレスリリース「加齢黄斑変性発症に関わる新たな遺伝子型を発見」
https://www.riken.jp/press/2016/20161111_1/

注5) Myriad Genetics 「The MyRisk™ Hereditary Cancer Test helps you make the decisions that matter most」
<https://myriad.com/our-tests/hereditary-cancer/myrisk/>

注6) 米国臨床遺伝・ゲノム学会 (ACMG)
<https://www.acmg.net/>

注7) 分子病理学会 (AMP)
<https://www.amp.org/>

注8) 国際的な生命科学系データベース「ClinVar」
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>

そして、胆道がん患者群の5.5% (71人) が、遺伝性腫瘍関連遺伝子の病的バリエーションを保有しており、病的バリエーションを持つことで胆道がんへのなりやすさ (発症リスク: オッズ比) が約4.1倍に高まることが分かりました (表)。病的バリエーションを保有する胆道がん患者は、発症年齢が若く、乳がんの既往歴または家族歴があり、また肝内胆管がんの症例が多い傾向にありましたが、予後との関連は見られませんでした。遺伝子ごとの解析では、5遺伝子 (*BRCA1*、*BRCA2*、*APC*、*MSH6*、*PALB2*) が胆道がん発症に寄与していることが統計学的に明らかになりました (表)。

遺伝子別に説明すると、HBOCの原因遺伝子である *BRCA1* ($P=4.2 \times 10^{-10}$) と *BRCA2* ($P=2.2 \times 10^{-7}$) は、相同組換え修復というDNA修復機構に関わっており、前立腺がんや膵臓がんとの関連も既に明らかになっています。これら遺伝子の病的バリエーションを保有すると、胆道がん発症のリスクがそれぞれ13.6倍、6.5倍になることが分かりました。同様にDNA修復機構に関わる *PALB2* 遺伝子 ($P=0.01$) も乳がん発生との関連が臨床的に実証されていますが、病的バリエーションを保有すると胆道がん発症リスクが5.3倍になります。

また、遺伝性大腸がんの原因遺伝子で、DNAミスマッチ修復遺伝子^[7]の *MSH6* ($P=7.6 \times 10^{-4}$) では、病的バリエーションを保有すると胆道がん発症リスクが5.2倍になります。家族性大腸腺腫症^[8]というまれな遺伝性大腸がんの原因遺伝子である *APC* ($P=4.1 \times 10^{-5}$) は、頻度は少ないものの、ファーター乳頭部がんの発生と特に関連があり、病的バリエーションを保有すると胆道がん発症リスクは18.2倍になることが分かりました。

遺伝子	病的 バリエーション 数	胆道がん(n = 1,292) 保有例数(%)	対照群 (n = 37,583) 保有例数 (%)	P 値	オッズ	95% CI
BRCA1	23	13 (1.01)	28 (0.08)	4.2×10^{-10}	13.6	(6.5–27.3)
BRCA2	41	14 (1.08)	63 (0.17)	2.2×10^{-7}	6.5	(3.4–11.8)
APC	9	5 (0.39)	8 (0.02)	4.1×10^{-5}	18.2	(4.7–63.3)
MSH6	23	7 (0.54)	39 (0.1)	7.6×10^{-4}	5.2	(2–11.9)
PALB2	17	4 (0.31)	22 (0.06)	0.01	5.3	(1.3–15.6)
27遺伝子 合計	317	71 (5.5)	520 (1.38)	1.0×10^{-20}	4.1	(3.2–5.4)

表 本研究で明らかになった胆道がん原因遺伝子別の病的バリエーション保有者と発症リスク

P 値は、偶然にそのようなことが起こる確率のことで、統計学的有意差を示す指標である。P 値が低いほど偶然では起こり得ない（ここでは、胆道がん発生に寄与している可能性が高い）ことを示す。オッズ比は、ある事象の起こりやすさについて二つの群で比較したときの違いを示す統計学的尺度の一つで、病的バリエーションを持つことで発症リスクが何倍高まるかを表す。

このように、胆道がんの発生には DNA 修復機構の異常が深く関わっていることから、北海道大学病院において切除された胆道がんの組織を用いて、DNA 修復機構欠損 (HRD) によって蓄積したゲノムの“傷跡”の検出を試みました。52 例の胆道がん組織と正常組織から DNA を抽出し、全ゲノムシーケンス解析を行いました。その結果、点変異、構造異常、コピー数異常^[9]が網羅的に同定され、HRD 陽性の胆道がんは、HRD 陰性の胆道がんに比べて、構造異常やコピー数異常が多いことが判明しました (図 1)。

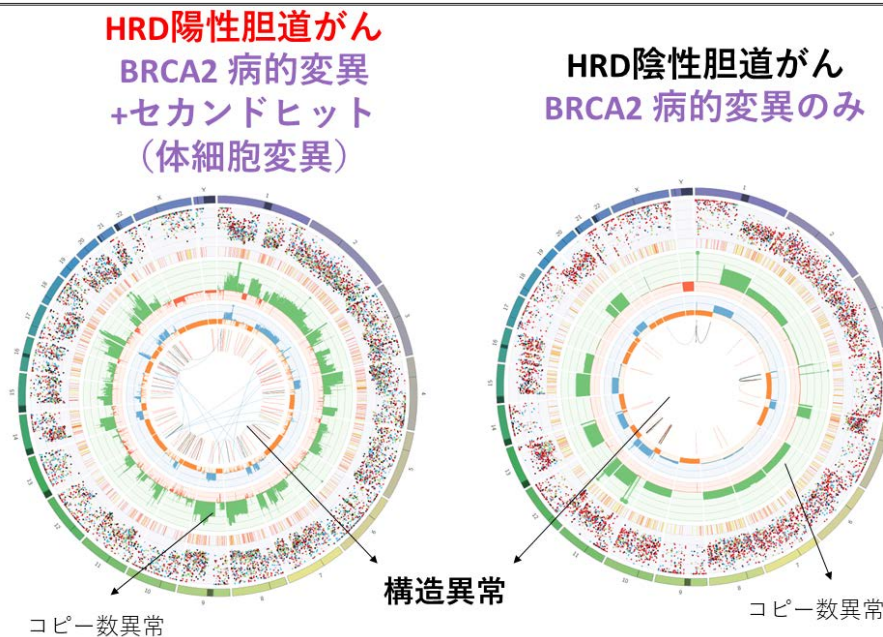


図1 HRD 陽性/陰性の胆道がんの全ゲノムでの体細胞変異パターン

外枠から1層目は染色体の位置、2層目は小さな変異、3層目/4層目はコピー数異常、5層目(中心部)は構造異常のパターンを示す。HRD 陽性がんでは、構造異常やコピー数異常が多い。

これらの情報の中から、HRDによって誘発される特徴的な変異を抽出し、機械学習^[10]の手法を用いて、HRDの有無を判定しました。遺伝性腫瘍で生殖細胞に病的バリエーション(1ヒット)が存在する場合、通常、染色体欠失などの体細胞変異(セカンドヒット)が起きて2コピーとも欠損し、機能喪失となります。解析の結果、*BRCA2* 遺伝子や *PALB2* 遺伝子のセカンドヒットが起きている胆道がんのみが、HRD 陽性と判定され、*BRCA1/2* 遺伝子のセカンドヒット(体細胞変異)のない胆道がんは、HRD 陰性でした(図2)。また、相同組換え修復機構と遺伝性腫瘍と関連が証明されている他の遺伝子(*BRIP1* と *ATM* 遺伝子)の病的バリエーションを保有し、かつセカンドヒットが起きている胆道がんについても、HRD 陰性でした。

BRCA2 遺伝子の病的バリエーションを保有し、HRD 陽性の1例の胆道がんについては、再発時に、DNA 障害性薬剤のシスプラチンを用いた化学療法や放射線療法の効果がありました。HRD 陽性の胆道がんについては、HRD がん細胞を特異的に細胞死させる *PARP1* 阻害剤^[11]の効果も期待できると考えられます。

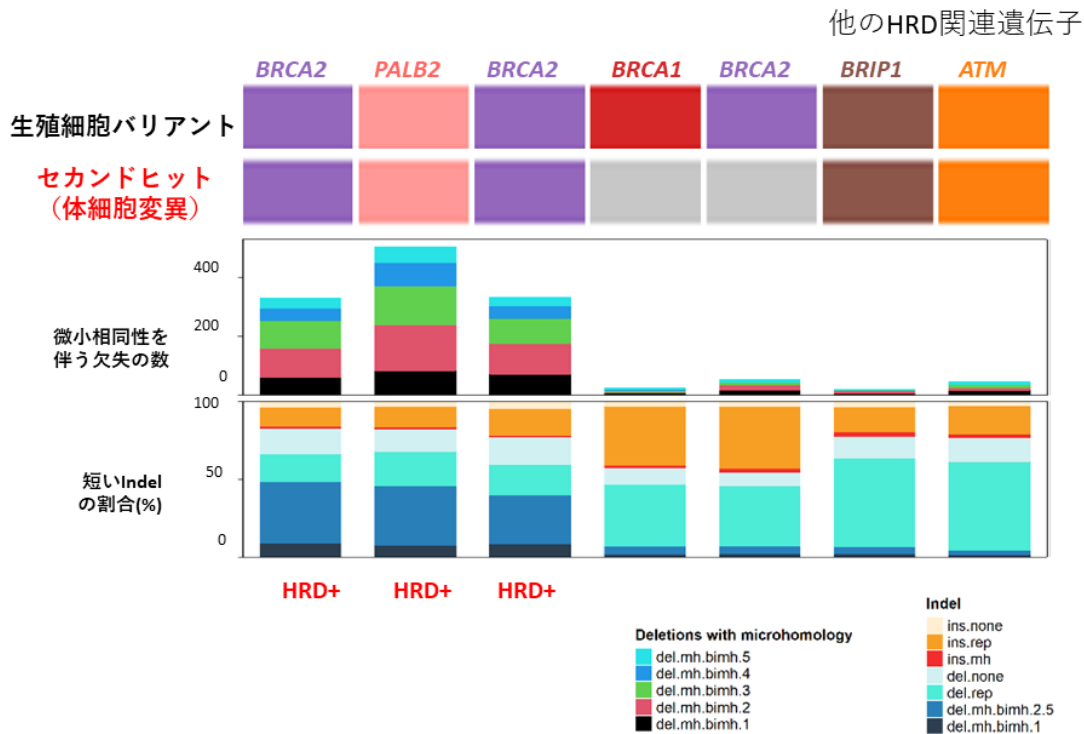


図2 胆道がんのコピー数異常と HRD の有無

HRD 関連遺伝子の病的バリエントを保有する胆道がんのセカンドヒット（体細胞変異）の有無、HRD に関連する欠失や短い indel（挿入）変異の数を示す。左から 3 列目までの遺伝子（*BRCA2*、*PALB2*）はセカンドヒットが起きていて、HRD 陽性（HRD+）である。左から 4 列目と 5 列目の遺伝子（*BRCA1*、*BRCA2*）は生殖細胞のみに病的バリエントを持ち、セカンドヒットはなく、HRD 陰性である。HRD 陽性の場合、微小相同性を伴う欠失やある特定の短い indel 変異が多い。なお、左から 6 列目と 7 列目の遺伝子（*BRIP1*、*ATM*）はその他の HRD 関連遺伝子で、セカンドヒットが起きていて、HRD 陰性である。

今後の期待

今回の研究成果により、相同組換え修復欠損の DNA 修復機構の関わる遺伝子が胆道がんの発生に深く関与することが分かりました。胆道がんについても、HRD を標的とした PARP 阻害剤や DNA 障害性の化学療法、放射線療法の効果が得られると考えられ、がんのゲノム医療や個別化医療への貢献が期待できます。

また、日本人の胆道がんの少なくとも 5.5% に遺伝性腫瘍が含まれていることが判明したことから、ゲノム医療によって、本人および家族についてもがんのリスク診断や予防を積極的に進めていくべき、と考えます。

論文情報

<タイトル>

Hereditary Cancer Variants and Homologous Recombination Deficiency in Biliary Tract Cancer

<著者名>

Yuki Okawa, Yusuke Iwasaki, Todd A Johnson, Nobutaka Ebata, Chihiro Inai, Mikiko Endo, Kazuhiro Maejima, Shota Sasagawa, Masashi Fujita, Koichi Matsuda, Yoshinori Murakami, Toru Nakamura, Satoshi Hirano, Yukihide Momozawa and Hidewaki Nakagawa

<雑誌>

Journal of Hepatology

<DOI>

10.1016/j.jhep.2022.09.025

補足説明

[1] バイオバンク・ジャパン

アジア最大規模の疾患バイオバンクで、東京大学医科学研究所内に設置されている。オーダーメイド医療の実現プログラムの基盤であり、日本人 20 万人から収集した DNA や血清サンプルを臨床情報とともに厳重に保管し、研究者への試料やデータの提供を行っている。

[2] 遺伝性乳がん卵巣がん (HBOC)

遺伝的要因により、乳がんや卵巣がんを発症する病気。BRCA1 遺伝子または BRCA2 遺伝子の病的バリエーション保有がその原因。乳がんだけでなく、膵臓がん、前立腺がんなども発症しやすいことが分かっており、人数の割合としては、乳がん全体の 4%、卵巣がん全体の 10~15%、膵臓がん全体の 3.4%、前立腺がん全体の 1.1% が HBOC という報告がある。今回の胆道がんの解析では、2.1% が HBOC に該当する。HBOC は hereditary breast and ovarian cancer の略。

[3] 病的バリエーション、遺伝的バリエーション

ヒトの DNA 配列は 30 億の塩基対からなるが、その配列の個人間の違いを遺伝的バリエーションという。そのうち、疾患発症の原因となるものを病的バリエーションと呼ぶ。

[4] 全ゲノムシーケンス解析

個人やがん細胞の全ゲノム情報を解読し、塩基配列の違いや変化を同定する解析。がん細胞の場合は、がん DNA と同一患者由来の正常 DNA の両方を解析し、その差分を調べる。がんの全ゲノムシーケンス解析により、一塩基変異 (SNV)、indel (短い欠失・挿入)、コピー数異常、構造異常など、ほぼ全てのゲノム異常を同定できる。

[5] 相同組換え修復欠損 (HRD)

相同組換え (相同的組換え) は、DNA の塩基配列がよく似た部位 (相同部位) で起こる組換えである。さまざまな化学物質や放射線により切断された DNA は、主に相同組換えによって修復される。相同組換え修復欠損は、ヒトにおけるがんの発生と強く関連付けられており、BRCA1/2 遺伝子などの変異によって、DNA の修復がうまく進まず、主に構造異常などの変異が蓄積してがんが発生する。HRD は homologous recombination deficiency の略。

[6] ファーター乳頭部がん

胆管と膵管が十二指腸につながる部位をファーター乳頭部といい、ここから胆汁や膵液といった消化液が腸内に放出される。この部位にできたがんがファーター乳頭部がんで、胆道がんの一つに分類される。

[7] DNA ミスマッチ修復遺伝子

DNA ミスマッチとは、DNA 複製などの際に誤対合、塩基の誤挿入、欠失が起こること。DNA ミスマッチ修復遺伝子はその修復に関わる。遺伝性大腸がんであるリンチ症候群では、*MSH2*、*MLH1*、*MSH6*、*PMS2* 遺伝子が DNA ミスマッチ修復の中心となる。これらの遺伝子に病的バリエーションを保有すると、DNA ミスマッチ修復が低下するため変異が蓄積され、大腸がんや子宮体がんを発症する。

[8] 家族性大腸腺腫症

まれな遺伝性腫瘍である家族性大腸腺腫症は、大腸の中にたくさんのポリープができて（100 個以上の場合が多い）、やがてそれががん化することにより、大腸がんを発症する。*APC* 遺伝子の病的バリエーションが原因であり、散発性の大腸がんや大腸ポリープにおいても、*APC* 遺伝子の体細胞変異が確認され、大腸がん発生の最も初期の変異とされる。

[9] コピー数異常

正常な体細胞には同じ染色体が二つ（2 コピー）存在するが、がん細胞では部分的にあるいは染色体そのものが欠失したり、数コピーに増幅したりする。これをコピー数異常と呼ぶ。欠失した領域にはがん抑制遺伝子が、増幅した領域にはがん遺伝子が存在すると考えられている。

[10] 機械学習

人間の学習能力と同様に、機械（コンピュータ）に学習能力を持たせる手法。データから機械自身が反復的に解析し、ルールを見つけ出すという特徴がある。

[11] PARP1 阻害剤

DNA の相同組換え修復機構が機能していないがん細胞に、特異的に細胞死を誘導する新しい分子標的薬。PARP1 阻害剤はがん治療に新たなアプローチをもたらした。相同組換え修復欠損が生じている細胞で、別の補完している DNA 修復機能を阻害することにより、PARP1 阻害剤は標的がん細胞特異的な合成致死性をもたらす。PARP1 は Poly (ADP-Ribose) Polymerase1 の略。

共同研究グループ

理化学研究所 生命医科学研究センター

がんゲノム研究チーム

研修生 大川裕貴 (オオカワ・ユウキ)

(北海道大学大学院 医学院 博士課程)

チームリーダー 中川英刀 (ナカガワ・ヒデワキ)

研究員 Johnson Todd (ジョンソン・トッド)

基盤技術開発研究チーム

チームリーダー 桃沢幸秀 (モモザワ・ユキヒデ)

北海道大学大学院 医学研究院 外科学分野 消化器外科学教室 II

教授	平野 聡	(ヒラノ・サトシ)
助教	中村 透	(ナカムラ・トオル)

研究支援

本研究は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業科研費基盤研究（B）「肝胆がんのゲノム不安定性と免疫機構の解明（領域代表者：中川英刀）」、日本医療研究開発機構（AMED）ゲノム創薬基盤推進研究事業「乳がん・大腸がん・膵がんに対する適切な薬剤投与を可能にする大規模データ基盤の構築（研究開発代表者：桃沢幸秀）」による助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせ下さい
理化学研究所 生命医科学研究センター

がんゲノム研究チーム

研修生 大川裕貴（オオカワ・ユウキ）

（北海道大学大学院 医学院 博士課程）

チームリーダー 中川英刀（ナカガワ・ヒデワキ）

基盤技術開発研究チーム

チームリーダー 桃沢幸秀（モモザワ・ユキヒデ）

北海道大学大学院 医学研究院 外科学分野 消化器外科学教室 II

教授 平野 聡（ヒラノ・サトシ）

助教 中村 透（ナカムラ・トオル）

<機関窓口>

理化学研究所 広報室 報道担当

Tel: 050-3495-0247

Email: ex-press [at] ml.riken.jp

北海道大学 社会共創部広報課 広報・渉外担当

Tel: 011-706-2610 Fax: 011-706-2092

Email: jp-press [at] general.hokudai.ac.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。