

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 杉野 健太郎
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1036 号
学位授与の日付 令和4年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Germline and somatic mutations of homologous recombination-associated genes in Japanese ovarian cancer patients.
(日本人卵巣癌患者における相同組換え修復関連遺伝子の生殖細胞系列および体細胞変異)
論文審査委員 主査 教授 松本 雅記
副査 教授 近藤 英作
副査 准教授 押川 清孝

博士論文の要旨

【背景と目的】

相同組換え修復 (Homologous Recombination) には BRCA1/2 だけでなく様々な遺伝子が関与していることが知られている。HR 関連遺伝子の異常によりおこる相同組換え修復不全 (Homologous Recombination Deficiency, HRD) は、卵巣癌においてプラチナ製剤や PARP 阻害薬の感受性、さらには予後を予測するバイオマーカーとなりうることが報告されている。卵巣癌で最も頻度の高い組織型である高異型度漿液性癌 (High-grade serous carcinoma, HGSC) では、約半数で HRD を認める。一方、卵巣癌は人種間で組織型の頻度に違いがあることが知られており、日本人卵巣癌患者の約 25% に認められる明細胞癌 (Clear cell carcinoma, CCC) は、コーカソイドでは 5% 以下にしか認められない。

卵巣癌の組織型別の BRCA1/2 の生殖細胞系列変異の頻度については本邦からも報告があるが、HR 関連遺伝子の体細胞変異や BRCA1/2 以外の生殖細胞系列変異の頻度はほとんど報告がない。そこで本研究の目的は、日本人卵巣癌患者における組織型別の HR 関連遺伝子変異の頻度およびその臨床的意義を検証することとした。

【方法】

新潟大学医歯学総合病院で 2006 年から 2017 年の間に、術前に研究に同意され、凍結腫瘍組織及び血液採取が実施された卵巣癌 207 例を対象とした。術前化学療法が施行された症例は除外しており、HGSC 50 例 (24.2%)、低異型度漿液性癌 (Low-grade serous carcinoma, LGSC) 6 例 (2.9%)、CCC 99 例 (47.8%)、類内膜癌 (Endometrioid carcinoma, EC) 39 例 (18.8%)、粘液性癌 (Mucinous carcinoma, MC) 13 例 (6.3%) を対象とした。標的遺伝子として、HR 関連の 16 遺伝子 (ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CHEK1, CHEK2, EMSY, FANCL, NBN, PALB2, RAD50, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L)、卵巣癌の各組織型で特徴的な変異頻度を示す 5 遺伝子 (TP53, ARID1A, PIK3CA, KRAS, PTEN) を選択した。腫瘍 DNA 及び血液由来 DNA を用いてターゲットシーケンスを実施し、生殖細胞系列および体細胞変異を同定した。生殖細胞系列変異は、ナンセ

ンス変異、フレームシフトを伴う挿入・欠失、スプライシング変異を病的意義のある変異と定義した。体細胞変異は、上記以外に、ミスセンス変異、フレームシフトを伴わない挿入・欠失も加えて解析した。組織型別にHR関連遺伝子変異の頻度を調べ、無増悪生存期間や全生存期間との関連につき Kaplan-Meier法を用いて生存解析を行った。

【結果】

患者の年齢中央値は56歳（範囲32～89）、ステージⅠ 108例（52.1%）、ステージⅡ 26例（12.6%）、ステージⅢ 60例（29.0%）、ステージⅣ 13例（6.3%）であった。

まず、卵巣癌の各組織型に特徴的な体細胞変異の頻度を検討した。TP53変異はHGSC（82%）とMC（62%）で認められ、ARID1A・PIK3CA変異はCCC（70%、64%）とEC（46%、41%）で認め、これまでの報告と同様に組織型毎に特徴的な体細胞変異を認めることを確認した。

次に、HR関連遺伝子変異の頻度を検討した。HR関連遺伝子変異は全症例の30%に認め、体細胞変異のみが19%、生殖細胞系列変異のみが9%、両方を有する症例が2%であった。HGSC症例の44%でHR遺伝子変異が認められ、HGSC以外の卵巣癌の組織型においても24.8%の患者に変異が認められた。生殖細胞系列変異はBRCA1/2変異が最も頻度が高く、13例（6.3%）で認めた。体細胞変異は、ATM変異が23例（11.1%）と最多であった。組織型別では、HGSCでは22/50例（44%）、CCCでは27/99例（27%）、ECでは9/39例（23%）、MCでは2/13例（15%）、LGSCでは1/6例（17%）にHR関連遺伝子変異が認められた。組織型別におけるHR関連遺伝子変異陽性群と陰性群の2群間で無増悪生存期間・全生存期間を比較したが、いずれの組織型においても2群間で有意な差は認められなかった。

【考察】

HR関連遺伝子変異を持つ卵巣癌症例は、HR関連遺伝子変異を持たない症例に比し、予後良好であることが欧米より報告されている。しかし、欧米の論文は研究対象卵巣癌の多くがHGSCであり、HGSC以外の組織型でのHR関連遺伝子変異の臨床的意義は不明である。申請者らは、HGSCだけでなく、日本人で頻度の高いCCCやECについてHR関連遺伝子変異の有無と予後との関連を検証したが、いずれの組織型においても有意な差は認められなかった。その理由として、まずHR遺伝子変異とHRDとの乖離が考えられる。HRDの場合、卵巣癌の標準的治療薬である白金製剤に対して感受性が高く、PARP阻害薬が有効であることはよく知られているが、HR遺伝子変異が陽性であっても必ずしもHRDを来すとは限らない。BRCA1/2変異卵巣癌では、BRCA1/2の対立アレルでヘテロ接合性の消失（Loss of Heterozygosity; LOH）をきたしてBRCA1/2機能が不活化しているためHRDを呈する。しかし、BRCA1/2以外のHR関連遺伝子については、変異を認めても対立アレルが保持されていれば、必ずしも不活化せず、HRDを呈さない可能性がある。臨床サンプルでHRDを評価する方法として、LOH、テロメアアレルの不均衡（telomeric allelic imbalance: TAI）、及び大規模な状態遷移（large-scale state transition: LST）を測定してゲノム不安定性（Genomic Instability (GI) score）を評価するMyChoice診断システムがあり、今後、HR関連遺伝子変異とGI scoreとの関連を検証する必要がある。また、本研究は単施設での研究であり、症例数が限られていること、今回解析した症例の約半数がCCCでその47.8%症例が予後の良いステージⅠであったことも、HR関連遺伝子変異と予後との間に関連性を認めなかった要因であろう。

【結論】

申請者らは、HR関連遺伝子の変異頻度や予後との関連が明らかになっていないHGSC以外の卵巣癌に注目した結果、HGSC以外の4つの組織型においてもHR関連遺伝子変異を一定の頻度で認めるが、変異の有無はHGSC以外の組織型の予後と有意な関連を示さないことを明らかにした。

卵巣癌において、高異型度漿液性癌以外の組織型における相同組換え修復 (Homologous Recombination, HR) 関連遺伝子の変異頻度は、ほとんど報告がない。申請者は日本人卵巣癌患者における組織型別の HR 関連遺伝子変異の頻度およびその臨床的意義を検証することを目的とし卵巣癌 207 例を対象とし解析を行った。標的遺伝子として、HR 関連の 16 遺伝子を選択した。腫瘍 DNA 及び血液由来 DNA を用いてターゲットシーケンスを実施し、生殖細胞系列および体細胞変異を同定した。組織型別に HR 関連遺伝子変異の頻度を調べ、生存解析を行ったところ、高異型度漿液性癌症例の 44% で HR 遺伝子変異が認められ、他の組織型においても 24.8% の患者に変異が認められた。組織型別における HR 関連遺伝子変異陽性群と陰性群の 2 群間で予後を比較したが、いずれの組織型においても有意な差は認められなかった。本研究はコーカソイドでは頻度が少ないが日本人には多く見られる非高異型度漿液性癌卵巣癌の HRD 関連遺伝子変異の頻度を明らかにした点に、博士論文としての価値を認める。