

## 家族性肺がんのエクソーム解析

菊 地 利 明

新潟大学大学院医歯学総合研究科

呼吸器・感染症内科学分野

Familial Lung Cancer

Toshiaki KIKUCHI

*Department of Respiratory Medicine and Infectious Diseases, Niigata University*

*Graduate School of Medical and Dental Sciences*

### 要 旨

上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異陽性肺がんは、「腺がん, アジア系人種, 女性, 非喫煙者」に多く, その発がん機構には遺伝学的背景が示唆されている。最近われわれは, 7人兄弟のうち, 4人にEGFR遺伝子変異陽性肺がんが集積している家族例を経験し, その遺伝学的背景の存在を再認識させられた。そこで, その詳細を明らかにする目的で, 家族例患者の末梢血DNAを用いたエクソーム解析を行った。本稿では, その解析結果を一部紹介し, 全ゲノム関連解析と対比させながら, 疾患の原因遺伝子を探索する研究手法について考察する。

キーワード：家族性肺がん, EGFR 遺伝子, エクソーム解析, 全ゲノム関連解析

### 緒 言

がんは本邦における死因の第1位である。中でも, 肺がんはがん死の原因の第1位である。その肺がん患者の予後が変わってきている。上皮成長因子受容体 (EGFR)-チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) であるゲフィチニブが本邦で承認される

前後で, EGFR 遺伝子変異陽性の非小細胞肺がん患者の生存期間中央値は, 本邦で13.6ヶ月から27.2ヶ月と2倍に延長した<sup>1)</sup>。さらに, 本邦での臨床試験が一助となり, EGFR 遺伝子変異陽性肺がんに対するEGFR-TKIの有用性が確立されてきている<sup>2)3)</sup>。そして治療の観点から, EGFR 遺伝子変異が疑われる肺がんを効率的に見つけ出すこ

Reprint requests to: Toshiaki KIKUCHI  
Department of Respiratory Medicine and  
Infectious Diseases, Niigata University Graduate  
School of Medical and Dental Sciences,  
1-757 Asahimachi - dori, Chuo - ku,  
Niigata 951 - 8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科  
呼吸器・感染症内科学分野

菊 地 利 明

とが望まれ、「腺がん、アジア系人種、女性、非喫煙者」という患者像が浮かび上がってきた<sup>4)</sup>。このことはEGFR遺伝子変異陽性肺がんの発生日地として、何らかの遺伝学的素因があることを示唆している。

この遺伝学的素因を再認識させられる症例を、最近われわれは相次いで経験した<sup>5)</sup>。まずは、7人の兄弟姉妹のうち、4人の姉妹に肺がんが発症している家系で、うち3人の肺がん細胞でEGFR遺伝子変異を確認している(図1A)。点変異と欠失変異の二種類の遺伝子変異が姉妹内で混在していたことは、EGFR遺伝子変異そのものが遺伝しているわけではなく、発がんを導く遺伝学的素因が家系内に伝承されていることを示唆している。続いて経験したのは、母娘の家族内発症例で、いずれもEGFR遺伝子に点変異を有する肺がんであった。娘の発症年齢が40代と若年性肺がんであったことから、発がんの原因に遺伝学的素因が推察された(図1B)。

そこで、EGFR遺伝子変異陽性肺がんの遺伝学的素因を明らかにするために、図Aに示した家族例4名について、末梢血DNAを用いてエクソーム解析(全エクソンのシーケンシング)を行った。その結果、アミノ酸変異を来した変異遺伝子は、各例でそれぞれ5千個に上ることがわかった。そのうち、4名の患者に共通する変異遺伝子は3千個弱であった。さらに、遺伝子変異による損傷効果を予測するソフトウェア「PolyPhen-2」

などを用いて、家族性EGFR遺伝子変異陽性肺がんの原因と疑われる遺伝子を十個前後まで絞り込むことができた<sup>6)</sup>。現在、これらの遺伝子変異の生物学的影響を、培養細胞や実験動物を用いながら検証しているところである。

一般に、疾患の遺伝学的素因を明らかにする手法として、本研究で用いたエクソーム解析の他に、全ゲノム関連解析(GWAS, genome-wide association study)が考えられる(表1)。全ゲノム関連解析では、100万個近くの高頻度変異をマーカーSNP(single nucleotide polymorphism, 一塩基多型)として連鎖不均衡を調べる。そのため、検定有意水準 $5 \times 10^{-7} - 5 \times 10^{-8}$ を確保できる症例数さえ集積できれば、疾患に関連するマーカーSNPあるいはその遺伝子領域を比較的容易かつ確実に同定できる。しかし、GWASで同定される変異は、真の原因遺伝子異常ではなく、あくまでマーカーSNPである。すなわち、GWASはローリスク・ローリターンの研究手法である。

一方、全エクソンの塩基配列を決定するエクソーム解析は、エクソン上の遺伝子変異を低頻度の変異まですべて検出するため、真の原因遺伝子異常を同定できる。しかし、アミノ酸変異を来す変異遺伝子は、健常人でも1人当たり5千個見つかると、その中から原因遺伝子異常を見付け出すことは決して容易ではない。孤発例で行ったとしても「見えていても見えない(多数の変異の中に原因遺伝子変異が検出されていても同定できない)」とい

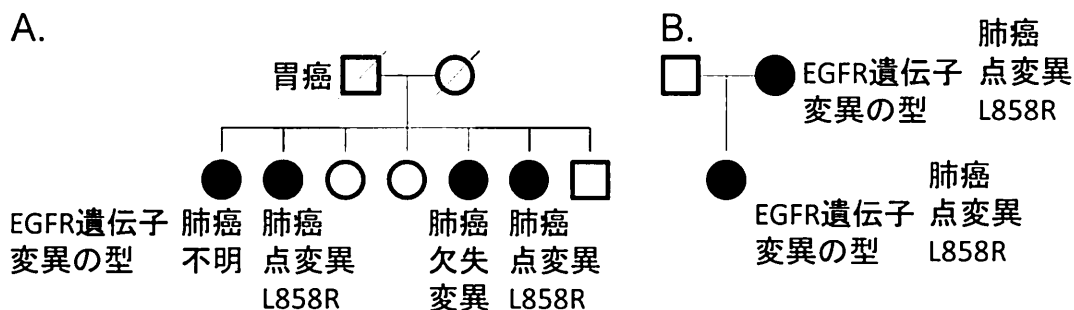


図1

姉妹(A)あるいは母娘(B)にEGFR遺伝子変異陽性肺がんが集積している家系

表1  
全ゲノム関連解析 GWASとエクソーム解析の比較

	全ゲノム関連解析 GWAS	エクソーム解析
解析対象	孤発例 (家族例や若年発症例などの 特殊な症例は必要ないが、 多数の症例が必要)	家族例や若年発症例 (多数の症例は必要ないが、 家族例や若年発症例などの 特殊な症例が必要)
同定対象	高頻度変異 common variation (アレル頻度5%以上)	低頻度変異 rare variation (アレル頻度2%以下)
変異の検出力	高い (頻度の高いSNPを 解析対象としているため)	低い (頻度の低い変異を 解析対象としているため)
変異のオッズ比	低い 1.2-1.5程度 (原因遺伝子異常ではなく、その 近傍のマーカーSNPが見つかる)	高い 2以上 (機能的な原因遺伝子異常が 見つかる)
特徴	ローリスク ローリターン	ハイリスク ハイリターン

う状況に陥る。そこで「家族内集積事例で患者間に共通する変異を探し出す」といったスクリーニング方法が必要となり、エクソーム解析は家族内集積例などの特殊な症例に限られる。それでも最終的には、既知の生物学的機能情報と照らし合わせて、原因遺伝子異常を同定および選定しなければならず、その過程で頓挫してしまう危険性もある。すなわち、エクソーム解析はハイリスク・ハイリターンの研究手法である。幸い本研究では、変異遺伝子の同定および選定を順調に進めることができおり、現在その検証作業を行っている。

本研究を通じて、EGFR 遺伝子変異陽性肺がんの原因遺伝子異常がわかれば、肺がん疑い患者の中から EGFR 遺伝子変異陽性肺がんをスクリーニングしたり、若年保因者の中から肺がんを早期診断したりできるようになることが期待される。将来的には、「なぜ EGFR 遺伝子変異陽性肺がんが腺がん、アジア系人種、女性、非喫煙者に多いのか」といった分子病態の解明につながり、それに基づく革新的な治療の構築や、効果的な発がん

予防戦略の確立にもつながるものと思われる。

## 文 献

- 1) Takano T, Fukui T, Ohe Y, Tsuta K, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Furuta K and Tamura T: EGFR mutations predict survival benefit from gefitinib in patients with advanced lung adenocarcinoma: a historical comparison of patients treated before and after gefitinib approval in Japan. *J Clin Oncol*; 26: 5589-5595, 2008.
- 2) Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, Gemma A, Harada M, Yoshizawa H, Kinoshita I, Fujita Y, Okinaga S, Hirano H, Yoshimori K, Harada T, Ogura T, Ando M, Miyazawa H, Tanaka T, Saijo Y, Hagiwara K, Morita S and Nukiwa T: Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 362: 2380-2388, 2010.

- 3) Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, Seto T, Satouchi M, Tada H, Hirashima T, Asami K, Katakami N, Takada M, Yoshioka H, Shibata K, Kudoh S, Shimizu E, Saito H, Toyooka S, Nakagawa K and Fukuoka M: Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non - small - cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 11: 121 - 128, 2010.
  - 4) Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE and Meyerson M: EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 304: 1497 - 1500, 2004.
  - 5) Sakakibara T, Saijo Y, Fukuhara T, Gomi K, Inoue A, Ishimoto O, Sugawara S and Nukiwa T: Adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor gene mutations in three siblings. *J Thorac Oncol* 3: 311 - 313, 2008.
  - 6) Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, Kondrashov AS and Sunyaev SR: A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* 7: 248 - 249, 2010.
-