HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた遺伝子解析と臨床的特徴に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	萩尾, 加奈子
Description	配架番号：2618
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14497号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81740
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kanako_Hagio_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　萩尾　加奈子

学 位 論 文 題 名

乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた遺伝子解析と臨床的特徴に関する研究
(Studies on genetic alterations and clinical characteristics
in breast cancer by clinical targeted sequencing)

【背景と目的】

乳癌は通常、乳管内増殖性病変から非浸潤癌、浸潤癌と進展していくが、発生から顕在化するまで 20 年以上かかると考えられている。一方で若年乳癌（初発時 35 歳未満）は、発生から顕在化するまでの期間が短く、遺伝的要因の関与が強く推測される。

乳癌は estrogen receptor (ER)、progesterone receptor (PgR)、human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) の 3 受容体および Ki67 の発現状況に基づいてサブタイプ分類され、サブタイプに応じて治療が選択される。乳癌全体のおよそ 80%を占める ER 陽性乳癌の治療は内分泌療法に対する感受性が重要であるが、感受性が低く進行の早い症例は治療選択に難渋することが多く、臨床上大きな問題である。最近は、このような標準治療が奏効しない症例に対し、がん遺伝子パネル検査が施行されるようになったが、治療に結びつく結果が得られることは少ない。また、がん遺伝子パネル検査結果と治療または予後について検討した報告は少ない。

がん遺伝子パネル検査結果の臨床的有用性を明らかにするため、本研究では、「1. 転移再発乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた検討」として、次世代シークエンサー (NGS) によるがん遺伝子の網羅的解析と臨床的特徴をレトロスペクティブに検討した。また、どのような遺伝子異常（クローン変化）が乳癌進展に関わるのかを明らかにするため、特に遺伝的要因の関与が強く推測される若年乳癌について、「2. 若年乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた検討」として、個々の症例のサブクローン構築を検討し、進展に伴うドライバー遺伝子などについて解析した。

＜1. 転移再発乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた検討＞

【対象と方法】

2016 年 4 月 から 2018 年 3 月に北海道大学病院でがん遺伝子パネル検査を受けた転移再発乳癌 29 症例の遺伝子結果を再解析し、遺伝子解析結果と臨床的特徴をレトロスペクティブに検討した。その中でも特に多いサブタイプである ER 陽性 HER2 陰性乳癌については、内分泌療法感受性に注目し、治療抵抗性と遺伝子異常との関係について検討した。

【結果】

全 29 症例における体細胞遺伝子異常としては *TP53*、*PIK3CA*、*AKT1*、*ESR1*、*MYC* の順に多く認め、過去の報告と概ね変わりなかった。生殖細胞系列変異のうち病的変異であった遺伝子は *BRCA1* と *BRCA2*、*PTEN* 遺伝子であった。ER 陽性 HER2 陰性乳癌 24 症例での検討では、内分泌療法感受性を低い順から very low、low、medium、high の四段階に分けた。内分泌療法感受性が低い程有意に予後不良であった（$P = 0.0275$）。体細胞遺伝子異常として、*TP53*、*PIK3CA*、*AKT1*、*ESR1* 遺伝子異常を多く認めた。特に、*TP53* 遺伝子異常は内分泌療法感受性 very low や low で多く認められ、また *TP53* 遺伝子異常がある方が有意に予後不良であった（$P = 0.0284$）。原発巣に *TP53* 遺伝子異常を認めた 4 症例全て 5 年以内に再発していた。転移巣の遺伝子異常に関わらず、転移巣に対して手術あるいは照射といった局所療法が行われた症例は長期生存していた。

【考察】
ER 陽性乳癌は、エストロゲンが ER と結合することにより誘導されるエストロゲンシグナルだけではなく、PI3K/AKT/mTOR 経路、MAPK/JNK 経路のような細胞内のリン酸化経路から ER のリン酸化を引き起こし、エストロゲン非依存性に ER の転写活性を上げる経路がある。この経路に関与する遺伝子として *ESR1*、*PIK3CA*、*PTEN*、*AKT1* などがあり、これらの遺伝子異常による増殖因子シグナルの活性化は内分泌療法抵抗性の原因の一つとなる。
TP53 遺伝子異常は内分泌療法感受性が低いほど多く認められ、それが治療抵抗性や生存率低下に関係していると推測された。また、原発巣で *TP53* 遺伝子異常を同定することにより治療抵抗性や予後を予測することができる可能性がある。転移巣の遺伝子異常に関わらず、転移巣に対する局所療法は腫瘍量を減らすという点からも有効になる場合もあると考える。

＜2. 若年乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた検討＞

【対象と方法】
2012 年 5 月から 2016 年 8 月の間に初発時 35 歳未満で乳癌と診断された 13 症例について、血液および原発巣（非浸潤部、浸潤部）、転移リンパ節の複数箇所から DNA を抽出し、NGS を用いて網羅的がん遺伝子解析を行った。腫瘍部分では腫瘍細胞含有割合を、正常乳腺（非腫瘍）では乳管上皮細胞の含有割合を評価した。DNA 抽出部位において、ER、PgR、HER2、Ki67 の発現を免疫組織化学法により評価し、遺伝子解析結果と免疫染色結果、さらに診療情報を用いた臨床的特徴をレトロスペクティブに検討した。

【結果】
全ての症例で非浸潤部と浸潤部、転移リンパ節のサブタイプ（ER、PgR、HER2 の陽陰性）は一致していた。正常乳腺、非浸潤部、浸潤部、転移リンパ節で遺伝子異常が共通する症例と全く異なる症例が存在し、化学療法の前後の乳癌細胞では遺伝子異常の消失や獲得が確認できた。生殖細胞系列変異は *PTEN*、*BRCA2* などがあり、これらは検査した部位全てに共通して認められた。また、若年乳癌と非若年乳癌（「1. 転移再発乳癌におけるがん遺伝子パネルを用いた検討」の 35 歳以上の症例）を比較検討したところ、生殖細胞系列変異は両者で大きな違いは認められず、体細胞遺伝子異常は若年乳癌の方が遺伝子異常の数が少なく、一般的な乳癌関連遺伝子とは異なる遺伝子異常を多く認めた。

【考察】
乳癌は進展に伴い個々の細胞毎に遺伝子異常が積み重なりサブクローンが形成されるが、サブクローン構築は症例毎に異なる。本研究では、非浸潤部、浸潤部、転移リンパ節の各部位における腫瘍含有割合と変異率から、遺伝子異常がどのように乳癌の進展に関わったかを推測した。異常のあった遺伝子の種類や遺伝子異常の変化は、全ての症例で異なっており、進展の過程において各部位でクローンが共通する症例と全く異なる症例が存在した。しかしながら、若年乳癌では、今回検討した 160 遺伝子以外の別の遺伝子異常が癌の発生や進展に関わっている可能性もあり、乳癌進展に伴う遺伝子異常とクローンの変化をより詳細に検討するには、検査する遺伝子や検査部位を増やすなどによる検証が必要と考える。

【結論】
ER 陽性 HER2 陰性乳癌において、*TP53* 遺伝子異常は治療選択のバイオマーカーや予後予測因子になり得ると考えられた。
乳癌の進展に伴う遺伝子異常は、個々の症例で全く異なっていた。診療目的に合わせて検査する遺伝子や検査部位、検査時期を選択することにより、遺伝子検査をより有効に活用できる可能性がある。また、若年乳癌は非若年乳癌とは異なる遺伝子が関与している可能性があり、若年乳癌を対象としたがん遺伝子パネルの必要性が示唆された。