

令和 2 年 6 月 24 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16239

研究課題名(和文)小児・家族性がん患者の網羅的遺伝子解析～新規治療・スクリーニング法の開発～

研究課題名(英文)Genetic analysis of pediatric and familial tumors - Development of screening methods

研究代表者

福島 紘子(Fukushima, Hiroko)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：30624986

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：家族性がんは数十種類が報告されており、遺伝子変異が同定された患者や疾患群に関しては有用なスクリーニング法や治療法の提示がされている。日本人小児がん患者ではこれまで報告はなく、臨床応用は実現していない。小児がんや家族性がんと診断された患者を対象とし、胚細胞系遺伝子解析(44～132個のがん関連遺伝子のターゲットリークエンス)を行った。小児がん・家族性腫瘍患者190名の解析を行った。患者一人当たりのまれなバリエーションは平均49個。全体の解析のうち、nonsense variantは16個、in/del variantは全体で35個、splice site variantは11個検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって初めて日本人小児がん・家族性腫瘍患者におけるバリエーション保有の概要が示された。一方で、過去に同様の報告がないことから、今後の知識の蓄積が肝要となり、実際の患者の臨床像と比較し、検出されたバリエーションが真に病的であるかの検討を行っていく必要がある。また、バリエーションが検出された患者では今後特有の発がんスクリーニングを計画していくなどの方策が考えられる。これによって、発がんを初期段階で検出し、治療することが可能となり、長期生存、QOLが保たれる。

研究成果の概要(英文)：Dozens of familial cancers have been reported and are useful with respect to patients and disease groups for which genetic mutations have been identified. It presents a variety of screening and treatment methods. There have been no reports of this drug in Japanese pediatric cancer patients and no clinical applications have been realized. Patients diagnosed with pediatric and familial cancers were subjected to embryonic cell lineage genetic analysis (44-132 (Targeted lethality of cancer-related genes)). We analyzed 190 patients with pediatric and familial cancers and familial tumors. The average number of rare variants per patient is 49. Of the total analysis, there are 16 nonsense variants and 16 in/del variants. A total of 35 cells and 11 splice site variants were detected.

研究分野：小児がん、人類遺伝

キーワード：小児がん 胚細胞系遺伝子解析 発がん関連遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

### **本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ**

家族性のがんをおこすといわれている症候群および遺伝子は数十種類が報告されており、**遺伝子変異が同定された患者や疾患群に関しては有用なスクリーニング法や治療法の呈示がされている。**例えば網膜芽細胞腫（原因遺伝子：RB1）では、未発症者の早期スクリーニング・早期治療介入により眼球温存率の向上が得られる。Li-Fraumeni 症候群（原因遺伝子 TP53）は家族性のがん疾患であり、計画的ながんスクリーニング検査を行うことによって、早期発見、早期治療を可能とし、その生存率が上昇することが報告されている (Villani A et al. 2011)。これらのことから、患者個人の発がん様式や病勢を予測するのにあたり、胚細胞変異を特定することは非常に重要な事項と考えられる。

小児期・家族性のがんを発症する患者では遺伝学的背景が強く示唆されるにもかかわらず、患者の多くは、一部患者を除き、原因となるような遺伝子変化は同定されていない。特に、これまで国内においては一部の家族性腫瘍を除いて、小児がん・家族性腫瘍患者の研究は限られており、胚細胞系列変異検索に注目した研究はほとんどない。

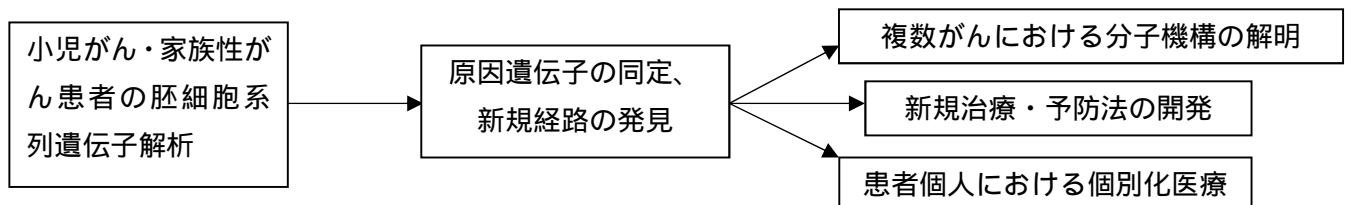
これは、小児がんはまれな疾患でありおよそ 1 万人に 1 人、日本全体で 1 年間に 2,500-3,000 人程度しか発症せず、研究が推進しづらい環境にあることも一因と考えられる。

また 2 人に 1 人が生涯がんを発症するが、小児がん患者は 1 万人に 1 人の発症であり、その発症率の低さから、日本で診断されるがんのほぼ全ては成人期発症であり、通常のことではがんを発症しないことがわかる。このことから、小児がん発症をきたす遺伝子変異は非常に強力な発がん因子であり、重要な機能、チェックポイントを有しているものであるとされる。

## 2. 研究の目的

### **未発症者や患者本人における将来の発がんに関する、妥当ながんスクリーニング法の開発や、発がん予防のための最適な生活習慣の呈示を目指す。**

上記背景を踏まえ、本研究は小児がん罹患した症例および家族、家族性のがんを発症した家系の胚細胞系列及び体細胞系列の遺伝学的解析を行い、胚細胞系列遺伝子変化の割合、遺伝子の同定、遺伝子解析結果を踏まえた将来のスクリーニング計画等の立案を目的とした。



## 3. 研究の方法

筑波大学附属病院および共同研究施設で診療を受けた小児がん患者、家族性がん患者の胚細胞系列 DNA を用いて遺伝子解析を行った。胚細胞系列 DNA は末梢血より抽出した。白血球は寛解期末梢血を用いた。

発がんに関与している可能性の高い候補遺伝子 46 ~ 132 遺伝子（家族性腫瘍原因遺伝子、DNA 修復遺伝子、p53 経路、Notch シグナル経路等）の全エクソン領域に関して、targeted

resequenceを行った。IonAmpliseqDesigner(ThermoScientific社)を用いて multiplex PCR用のプライマーの設計を行った。IonPGM システム(ThermoScientific社)を用いDNA断片のターゲット領域の増幅、同定を行った。

#### 4. 研究成果

研究参加者は小児がん患者146名、家族性腫瘍患者44名、合計190名であった。小児がん患者の診断名の内訳は脳腫瘍32名、横紋筋肉腫20名、急性リンパ性白血病24名、急性骨髄性白血病11名、神経芽細胞腫12名、ユーイング肉腫9名、網膜芽細胞腫9名、腎腫瘍7名、悪性リンパ腫4名、胸膜肺芽腫3名、その他11名であった。シーケンスの mean depth の平均値は238であった。患者に認められたバリエーションは一部ダイレクトシーケンスや igv などの可視化ソフトで確認を行った。全患者に同定されたバリエーション数の平均値は272であった。このうち、患者一人当たりのまれで ClinVar で benign/likely benign とされておらず、まれなバリエーション (MAF<0.01) は平均で49個であった。全体の解析のうち、nonsense variant は16個、in/del は全体で35個、splice site variant は11個検出された。また、非同義置換アミノ酸のうち、pathogenic/likely pathogenic と定義されたバリエーションは全体で4個検出された。これらのバリエーションを一つ以上保有する患者数は49名であり、全体の25%であった。現時点で検出されたバリエーション保有率は欧米での既報よりも高率であることから、真に病的かどうかの判定をさらに検討する必要があるが、人種差が存在する可能性があると考えられた。

日本人における保有頻度の報告は過去になく、今後更なる解析を進めていく。また、当該遺伝子変化が患者の現在の発がんに関与するかどうかは個々の患者の臨床像や今後の知識の蓄積が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hiroko Fukushima
2. 発表標題 Cancer predisposition genes among childhood malignancy
3. 学会等名 日本人類遺伝学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----