

がんシステムの新次元俯瞰と攻略

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究 (研究領域提案型)(複合領域: 4701)



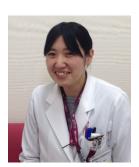
Newsletter No. 13

CONQUERING CANCER THROUGH NEO-DIMENSIONAL SYSTEMS UNDERSTANDING 公募研究

ナノポアシークエンサーによるがん細胞の 変異検出およびフェーズ情報解析手法の確立

公募研究 A02-4-16 研究代表者

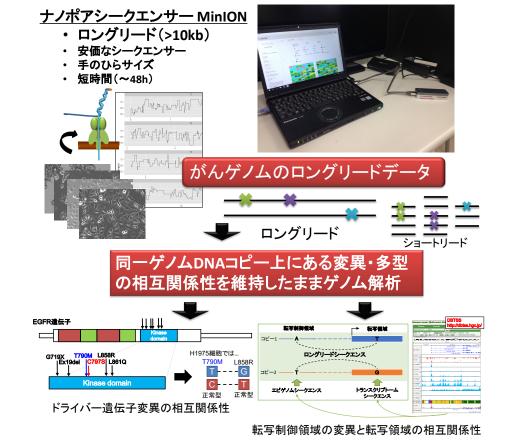
国立がん研究センター先端医療開発センター 研究員 鈴木 絢子



がんは遺伝子変異の病気であり、実際にがん細胞のゲノムには多数の異常が生じています。近年の大規模シークエンス技術の発展に伴って、それぞれのがんではどのような異常が生じているのかを明らかにするために、世界的に多種多様ながんゲノムのシークエンス解析が進められてきました。特に肺がんでは、がんの発生・進展に直接寄与する遺伝子異常(ドライバー変異)のカタログ化が進んでおり、

EGFR や ALK 遺伝子といった原因遺伝子をターゲットにした分子標的薬の開発がおこなわれています。しかし一方で、症例によってはゲノム解析を行ったとしても、ドライバー変異が不明、もしくは、ドライバー変異が分かってもそれに適した分子標的薬がない、などといった問題点も挙げられています。実際に、日本人肺腺がん患者の約2~3割は明確なドライバー遺伝子がわかっていません(Kohno et al. 2013

Cancer Science)。大規模シークエンサーによってがんゲノムからたくさんの変異を見つけることができましたが、解析の仕方によっては見逃されてしまっているゲノム異常があるとも考えられます。今後もさまざまな角度からがんゲノムを再評価する必要があると考えられます。



がん現在、ゲノム解析に使用されてい る多くの大規模シークエンサーは、数十 ~数百塩基対の短い DNA 断片の配列 (ショートリード)を解読して大量のデータ を出力します。これらデータをスーパーコ ンピュータなどの大規模コンピュータシス テムを用いて情報解析を行うことで、がん ゲノムに特異的に起きている変異が数多 く同定されてきました。しかし、これらの短 い配列データから、本来は長い DNA 分子 上に生じている異常を、相互の関係性 (フェーズ情報)を保持したまま検出する のは難しいと考えられます。そこで本研究 では、10kb を超える長い DNA 配列(ロン グリード)を解析することが可能なナノポ アシークエンサー MinION を用いて、肺が んゲノムをより詳細に解析するための情 報解析手法を確立することにしました(図 1)。MinION は、DNA 分子がナノポアチャ ネルを通過する際の電気シグナルのパ ターンから塩基配列を読み取ります。ロン グリードが解析できることもさることながら、 初期投資が安価でポータブル性が高く、 短時間でデータを得られることから、新し いゲノム解析技術として注目されていま す。データ産出量と精度は従来型の ショートリードシークエンサーのほうが高 いといわれていますが、MinION もここ 2 年ほどで飛躍的に改良されてきました。

ロングリードシークエンサーを用いてがんゲノムを解析することで何を知ることができるでしょうか。ヒトの細胞にはゲノムDNAが2コピーあり、それぞれ父方と母方に由来するとされています。しかしがん細胞ではゲノムの不安定性がおき、遺伝子のコピー数が増加・減少していたり、染色体異数性が見られたりします。つまり細胞、特にがん細胞がもつDNA配列は一

本ではありません。ゲノム変異を解析する 際に、ロングリードで一気に長い DNA 断 片を読み取ることができれば、どの変異 が同じ DNA 上に生じていたのかが比較 的簡単にわかります。例えば、日本人肺 腺がんでは EGFR 遺伝子に変異が頻出し、 この変異をもつがん細胞には EGFR 遺伝 子に対する分子標的薬が効果を示すこと が知られています。しかし、治療を進める と薬剤に対して耐性を示すようになること があり、耐性を示した症例の約半数が同 じ EGFR 遺伝子上の異なる場所に新しく耐 性変異を獲得していたと報告されていま す(Camidge et al. 2014 Nature Reviews Clinical Oncology)。これら耐性を示すが んに効果のある薬剤を開発してもまた次 の耐性変異が出現することがありますが、 変異の組み合わせによっては以前耐性を 示した薬剤に再度感受性を示すこともあ ります(Shaw et al. 2016 N Engl J Med)。が んが進化していく過程でドライバー遺伝子 上に蓄積していく複数の変異が同一 DNA コピー上に存在するのか、がん組織の中 にあるたくさんのがん細胞の中でどの程 度の頻度で存在するのか解析することは 分子標的薬耐性獲得メカニズムの解明や 耐性を示すがんに対する次の治療選択・ 開発への有用な情報となるのではないか と考えています。

また、タンパク質コード領域の変異ではなく、いわゆるノンコーディング領域の変異を解析していく上でもロングリードシークエンス技術は役立ちます。いくつかのがん種ではプロモーターやエンハンサーといった遺伝子の転写を制御する領域に変異があることがすでに報告されており、例として TERT 遺伝子のプロモーター領域におけるホットスポット変異があげられます

(Huang et al. 2013 Science)。実際に私た ちが解析している肺腺がん培養細胞でも、 このプロモーター変異がみられるものが ありました。少なくとも2コピー以上あるゲ ノム DNA のうちの片方(アリル)にのみこ の変異が見られ、エピゲノムやトランスク リプトームのデータを組み合わせたところ、 変異アリルが特異的に転写活性化され、 発現していることが分かりました。転写制 御領域の変異はがんゲノムにおいてこの ほかにも数多く検出されるのですが、実 際の遺伝子発現・転写制御にどの程度影 響するのかわからないことが多いです。そ こで、肺がん培養細胞をモデルに、制御 領域の変異と同じゲノムコピー上にある 下流の転写領域がどの程度遺伝子発現 しているかどうかを明らかにすることに よって、転写制御領域の変異の影響を解 析することも現在行っています。肺がん培 養細胞のゲノム、エピゲノムおよびトラン スクリプトームといった大規模ショートリー ドデータは、連携研究者である東大の鈴 木穣教授、中井謙太教授が構築・管理す るデータベース DBTSS および DBKERO (http://dbtss.hgc.jp/)からすでに公開され ています。将来的にはここにロングリード シークエンスデータを新たに加えることで、 肺がんゲノムの転写制御異常をシングル アリルレベルでゲノムワイドに記載してい くことも目指しています。

ゲノム科学、生物情報学、および、腫瘍学の研究者の協力を得て、ゲノム生物学一般に対する技術基盤の確立、がんゲノムに対する新規概念の創出および実際の治療開発・診断への応用と、多方面にわたり研究を推進していく予定です。

公募研究

難治性肺がんに対する術後再発リスクや 治療応答性に関わる HLA アレルの同定

公募研究 A02-5-16 研究代表者 国立がん研究センター研究所 ユニット長 白石 航也



本邦における肺がんは男女ともにがん 死因上位を占める難治がんであり、罹患 数は年々増加傾向にあります。近年のゲ ノム研究の進歩により、ある一部のがん 遺伝子の内、がんの発生・進展において 直接的に重要な役割を果たすドライバー 遺伝子(例えば、EGFR(上皮増殖因子受 容体)変異、ALK 融合、ROS 融合、RET 融 合遺伝子等)の体細胞変異を治療標的と した複数の薬剤が開発されてきました。し かしながら多くの患者さんは、一時的にが んの進行を押さえられますが、再び増悪 することが知られており、進行性肺がんに 対する根治はきわめて難しいのが現状で す。そのため、治療効果が得られない原 因を解明することが急務となっています。 また、進行性肺がんの 5 年生存率は

20%以下であるのに対して、早期肺がん の 5 年生存率は 70%以上であることから、 肺がんに対する術後再発高危険度群を 捕捉し、術後再発を抑制することができれ ば、肺がん死抑制のための有益な手段と なりうると考えられます。我々は、肺腺が んのなかでも日本人に多い EGFR 変異陽 性肺腺がんについて、罹りやすさを決め る遺伝子領域を明らかにしました。その中 には、免疫反応の個人差の原因となる HLA(Human Leukocyte Antigen:ヒト白血 球抗原) クラス || 遺伝子領域が含まれて いました(Shiraishi et al., Nat Commun. 2016; 7:12451)。特に HLA クラス II 遺伝 子産物のうちの一つである HLA-DPB1 タン パク質の 57 番目のアミノ酸の置換を起こ す多型が、EGFR 変異陽性の肺腺がんの

罹りやすさを決める原因多型のひとつと 考えられます。HLA 遺伝子群の個人差は 臓器移植における適合性など、免疫反応 の個人差の原因となるものです。また、そ の個人差の分布は、人種によって大きく 異なっています。よって、EGFR 遺伝子に 変異を起こした細胞に対する免疫反応の 違いなど、いくつかの遺伝子の個人差に よる生体反応の個人差が、EGFR 変異陽 性肺腺がんへの罹りやすさを決めている と考えられます。これらの研究成果は、悪 性度の高いがん細胞が生き残るために必 要ながん組織中で認められる遺伝子異常 の他に、自己と非自己を認識するために 必要な HLA 遺伝子の多様性が、がん免 疫において重要な役割を果たしている可 能性を示しています。

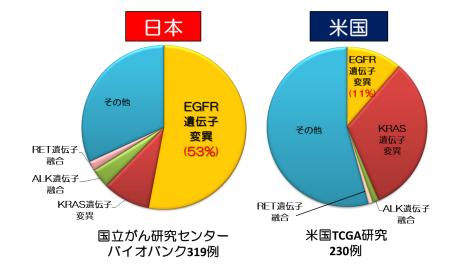


図1:日本人と欧米人の肺腺がんに生じるがん細胞由来の体細胞変異の違い EGFR 体細胞変異は日本人の肺腺がんの50%に生じ、欧米人よりもはるかに高頻度です。 一方で、HLA 領域は非常に多様性に富むため、ゲノム解析は積極的に行われてきませんでした。しかし最近のゲノム解析技術の進歩により、日本人集団におけるHLA 領域のレファレンスパネルが構築され、それらを基に HLA imputation 法が開発されました(A02-1 計画研究代表者:岡田随象教授の研究成果)。この解析技術を用いることで、既存の SNP チップのデータがあれば、HLA アレルの推定が可能になりました(Okada et al., Nat Genet. 2015;

47(7): p798-802.)。本研究では、既取得 SNP チップデータに基づき、HLA アレルを 含む一塩基多型(SNP)を推定し、術後再 発や治療応答性と関連する HLA アレルの 同定を目指します。

昨年度は術後再発リスクや治療応答性 との関連を検討するため、本研究に必要 な症例数の確保を進めてきました。検出 研究を拡張するため、一部検証研究に用 いるサンプルより、Illumina OmniExpressExsome SNP chip を用いてタ イピングを行いました。今年度は、これらの解析結果を統合して解析を進めてまいります。さらに強い関連が認められた HLA アレルについては、検証研究を用いて真の感受性遺伝子を同定する予定です。これらの成果は、HLA の多様性を含む胚細胞系列変異とがん細胞由来の体細胞変異情報を統合することで、がんの本態解明や効率的な治療法の開発に繋げられると考えられます。

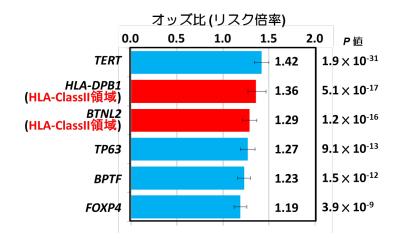


図2:

HLA の多様性が EGFR 変異陽性肺腺がんの発症要因に関わるある遺伝子の多型を持たない場合に対して、多型をひとつ持つ場合のリスクを倍率 (オッズ比±95%信頼区間)で示しています。人は父、母由来の二つの遺伝子を受け継ぐため、両方が危険型の人の場合、オッズ比の 2 乗の危険度となります。例えば、HLA-DPB1 遺伝子の多型の危険型をひとつ持つと 1.36 倍、ふたつ持つと 1.9 倍 (1.362=1.85) 肺腺がんにかかりやすくなると推定されます。

Information



東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センタースーパーコンピュータ

システム癌新次元で用いられるデータ解析ソフトウェアは、ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピュータで動いています。 スーパーコンピュータはどなたでもご利用になれます(有償)。





大容量のディスク装置

高密度の計算機

http://supcom.hgc.jp



http://neosystemscancer.hgc.jp/

新学術領域研究「システム癌新次元」ニュースレター No.13 発行日★平成29年6月6日 (初版) 発行★がんシステムの新次元俯瞰と攻略 領域代表者★宮野 悟

- 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター DNA情報解析分野
- 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
- TEL: 03-5449-5615 FAX: 03-5449-5442
- E-mail: miyanolab-jimu@edelweiss.hgc.jp