

課題番号 62

## HR 欠損がんの意義不明変異の機能アノテーション

### [1] 組織

代表者：河野 隆志  
(国立がん研究センター研究所)

対応者：宇井 彩子  
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 20 万円

### [2] 研究経過

がんゲノム医療の先鋒としての役割が期待される遺伝子パネル検査の結果、既存分子標的薬が投与される患者の割合は 15%程度にとどまることが大きな問題であり、薬剤の適応拡大が今後のがんゲノム医療における喫緊の課題である。特に乳がん・卵巣がんでは、HRD score による HR 欠損がん (HR-deficient; HRD) は PARP1 阻害薬の適応となるが、その大半は遺伝子異常が不明なためである。そこで遺伝子異常の同定により阻害薬の適応拡大が見込まれる。また AYA 世代がん (主に 15 歳から 39 歳の世代のがん) は遺伝的な要素が強く影響していると考えられ、上記の解明は今後の若年・難治性がんに対する治療の効果増大にもつながる。そこで本研究では、既承認の PARP1 阻害剤の治療標的となる相同組換え (Homologous Recombination; HR) 関連因子がん遺伝子を基盤とした VUS の機能アノテーションを行う。

具体的には、正確な機能評価を行うため VUS を含む cDNA 発現ベクターを組み込み、野生型と比べた際の下流シグナルの活性化や HR 活性への影響を評価するし、活性が低下した場合には PARP 阻害剤への感受性を評価する(図 1)。現在、婦人科がん患者のゲノム解析から候補となる因子を抽出しており、候補因子が決まり次第、以下の解析を行う。

1, HR 活性の測定 (DR-GFP 細胞を用いた活性測定と評価)

2, DSB (DNA double strand break) への応答の検出

3, PARP1 阻害剤の感受性の評価

また本研究の打ち合わせなどの開催状況については、研究結果がまとまったタイミング (2~3か月に 1度程度) で行った。

### [3] 成果

(3-1) 研究成果

特に HRD に関連が深いとされる乳がん、卵巣がんの患者の HRD スコアとがんの変異を評価したところ、HRD スコアが高いがんで、DNA 修復遺伝子 X の VUS が見出された。この遺伝子 X は、UV による DNA damage の DNA 修復経路に関与していることが報告されているものの、HR における機能については報告されていない。そこでこの遺伝子 X が HR に関わるかどうかを上記の 1~3 の解析方法を使用して解析を行った。

1, HR 活性の測定 (DR-GFP 細胞を用いた活性測定と評価)

まず、HR の活性を促進するかどうか検討するために、遺伝子 X の siRNA を用いて評価を行った。その結果、X のノックダウン細胞では、HR 活性が低下することが明らかになった (図 1)。このことより、X は HR を促進する機能を有している可能性が示唆された。

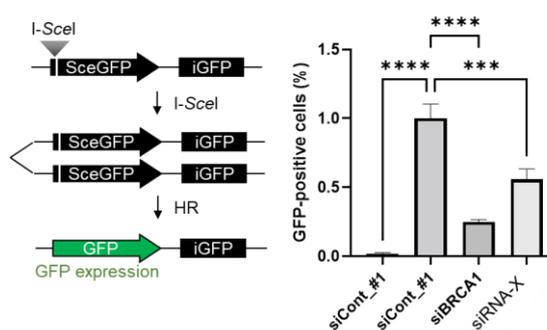


図1. HR活性の測定

2, DSB (DNA double strand break) への応答の検出

次に siRNA を用いて、DSB への応答を検討した。その結果、この遺伝子 X のノックダウン細胞では、HR の上流で HR を制御する乳がん原因遺伝子の BRCA1 の DSB への結合が低下することが示された (図 2)

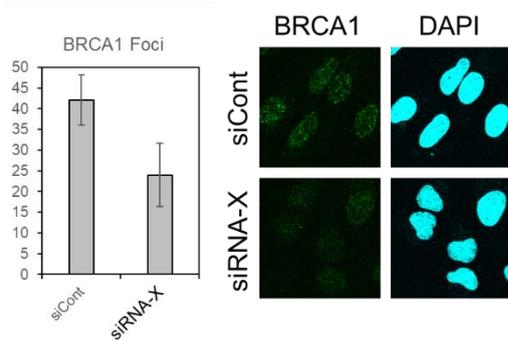


図2. BRCA1のDSBへの結合の評価

### 3. PARP1 阻害剤の感受性の評価

さらに、siRNA を用いて PARP1 阻害剤に対する感受性の評価を行った。その結果、遺伝子 X ノックダウン細胞では、コントロール細胞に比べて PARP 阻害剤に感受性になる事が示された (図 3)。

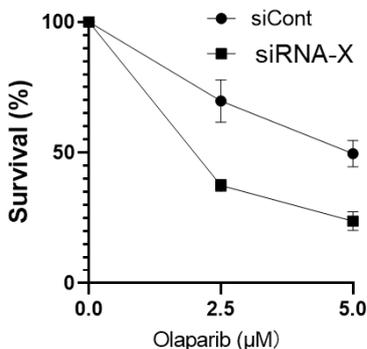


図3. PARP阻害剤感受性の評価

さらにこの遺伝子 X の VUS を発現する細胞を作成した。今後はこの VUS が HR に与える影響を明らかにしていきたい。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

今後は、上記に作成した VUS の DNA 修復における機能評価を行う。この VUS の評価により機能の意義が明らかになれば、今後は PARP 阻害剤に対する適応拡大につながる可能性があり、より適した治療選択の基盤的研究になる可能性が見込まれる。

#### [4] 成果資料

こちらは現在解析や実験が進行中の研究であり、未だ学会や論文で発表を行っていないが、今後は成果がまとまり次第、発表を行っていききたい。