

主論文要旨

論文提出者氏名：中野 万理

専攻分野：外科学（乳腺・内分泌外科）

指導教授：津川 浩一郎

主論文の題目：

A Genome-Wide Association Study Identifies Five Novel Genetic Markers for Trastuzumab-Induced Cardiotoxicity in Japanese Population

(ゲノムワイド関連解析による日本人集団における新たなトラスツズマブ心毒性マーカー遺伝子の同定)

共著者：

Chihiro Udagawa, Arata Shimo, Yasuyuki Kojima, Reiko Yoshie, Hisamitsu Zaha, Norie Abe, Tokiwa Motonari, Mikiko Unesoko, Kenji Tamura, Tatsunori Shimoi, Masayuki Yoshida, Teruhiko Yoshida, Hiromi Sakamoto, Ken Kato, Taisei Mushiroda, Koichiro Tsugawa, Hitoshi Zembutsu

緒言

トラスツズマブは epidermal growth factor receptor type2 (HER2) 陽性の乳癌・胃癌患者に投与される分子標的薬である。乳癌・胃癌の HER2 陽性患者において、トラスツズマブは有効な治療薬であるものの、重篤な副作用の一つとして心毒性が報告されている。トラスツズマブ心毒性の発現機序は明らかになっておらず、用量非依存的な毒性であることなどから、患者の遺伝的素因が影響している可能性があるものの、これまでに、心毒性を予測可能にする実用的バイオマーカーの同定には至っていない。

本研究では、トラスツズマブ治療を受けた日本人集団を対象にゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study, GWAS) を行い、トラスツズマブ治療開始前に心毒性発症リスクを予測するための遺伝的バイオマーカーを同定することを目的とした。

方法・対象

トラスツズマブによる抗腫瘍治療を受けた 481 症例を解析対象とし、心毒性の基準は、HERceptin Adjuvant (HERA) 試験 (第三相臨床試験) に従った。トラスツズマブ心毒性マーカー候補遺伝子をスクリーニングするため、心毒性陽性 11 症例および心毒性陰性 257 症例の正常細胞由来 (血球細胞 ; 生殖細胞系列) ゲノム DNA サンプルを用いて全ゲノム領域にわたる遺伝子多型 (Tag single nucleotide polymorphism (SNP)) を Illumina 社製の SNP chip (OmniExpressExome®) を用いて genotyping し、quality check を通過した 543,807 SNPs に対して、トラスツズマブ心毒性発症との関連解析 (Fisher の正確確率検定) を行った (ゲノムワイド関連解析, GWAS)。次に GWAS の結果において、有意差上位 100 SNPs に注目し、GWAS とは別集団の心毒性陽性 14 症例、心毒性陰性 199 症例を用いて検証試験 (replication study) を行った。更にスクリーニングと replication study を組み合わせた全 481 症例を用いて関連解析を行った (combined study)。

なお、本研究は、聖マリアンナ医科大学 生命倫理審査委員会 (承認番号 3784 号 (遺 205)) で承認を得た多施設共同研究である。

結果

268 症例を用いた GWAS ではゲノムワイド有意水準 ($P = 3.06 \times 10^{-8}$) を満たす SNP を認めなかった。また、GWAS の結果において有意差上位 100 SNPs に絞って行われた replication study においても有意水準を満たす SNP ($P = 1.37 \times 10^{-4}$) は認めなかった。しかし replication study にて $P < 0.1$ を示した 16 SNPs につき、GWAS および replication study で用いたサンプルを組み合わせた「combined study」を行った結果、5 遺伝領域 (染色体 13q14.3、15q26.3 の独立した 2 領域、17q25.3、4q25) に存在する合計 9 SNPs が GWAS の結果に比べ、より強い関連を示すことが明らかとなった ($6.00 \times 10^{-6} \leq P_{\text{combined}} \leq 1.60 \times 10^{-4}$)。SNP chip により、実際に genotyping が行われた tagSNP の他に、更に関連の強い SNP を同定するため「imputation 解析」を行ったところ、染色体 15q26.3 領域において、GWAS で同定されたマーカー tagSNP より強い関連を示す SNP (rs28415722) を新たに同定した。

上記 5 遺伝領域において、それぞれ最小の P 値を示したマーカー SNP (rs9316695、rs28415722、rs7406710、rs11932853、rs8032978) は、ロジスティック回帰分析の結果、それぞれ独立したトラスツズマブ心毒性予測因子であることが判明したため、この 5 SNP の遺伝子型情報を利用したスコアリングシステムの構築を検討した。その結果、合計スコアが 4 点以下の低スコア群では心毒性発症率が 1.8%であるのに対して、

スコア 5 点以上の高スコア群では 42.5%であり、高スコア群で有意にトラスツズマブによる心毒性発症率が高いことが示された ($P = 7.82 \times 10^{-15}$ 、オッズ比 = 40.0)。

考察・結語

本研究ではトラスツズマブ治療を受けた日本人 481 症例を用いて GWAS および replication study が行われ、トラスツズマブ心毒性発症と関連が示唆される新たな 5 遺伝領域が同定された。また、この 5 SNPs を使用した予測診断スコアはトラスツズマブ投与前の心毒性リスク予測診断に有用である可能性が示唆された。

5 つのマーカー SNP のうち染色体 13q14.3 の rs9316695 ($P_{\text{combined}} = 6.00 \times 10^{-6}$ 、オッズ比 = 4.46) は、トラスツズマブ心毒性と最も強い関連性を示した。この SNP は遺伝子間領域(intergene)に存在し、同一連鎖不平衡ブロック(LDブロック)内には long intergenic non-protein coding RNA 558 (*LINC00558*) が存在する。*LINC00558* の標的遺伝子の 1 つである *NOTCH3* はそのシグナル伝達が心不全において心筋リモデリング効果を示すことが報告されていることなどから、遺伝子多型による Notch シグナル伝達経路の個人差が、トラスツズマブ心毒性の発現に影響している可能性が推測された。

また、5 つのマーカー SNP の一つである染色体 15q26.3 の rs8032978 ($P_{\text{combined}} = 1.60 \times 10^{-4}$ 、オッズ比 = 5.83) は proprotein convertase subtilisin/kexin type 6 (*PCSK6*) 遺伝子と同一 LD ブロック内に存在している。*PCSK6* は心筋で高発現している「コリン」の活性化に寄与している。一方コリンは心臓や血管、体液量の恒常性維持に重要な役割を担うナトリウム利尿ペプチドを活性型(心負荷軽減作用)に変換する作用を有する。従って、*PCSK6* の発現低下などに伴う、コリンの活性低下は、心負荷軽減機能が低下し、トラスツズマブによる心筋障害(HER2 シグナル低下)の回復を困難とし、心毒性発症につながる可能性が示唆された。

これまでに、トラスツズマブ心毒性に関連する GWAS 研究は白人集団を対象としたもののみであり、本研究は日本人集団を対象とした GWAS としては、世界初のものである。本研究は HER2 陽性癌患者に対して、危険な副作用を回避し、より安全な抗 HER2 治療の提供につながるものと期待される。