

がんの遺伝子解析と患者さんに優しい診断技術の開発



医療と技術

谷内田 真一*

Cancer genome analysis and its application with a minimally-invasive approach for cancer diagnosis

Key Words : Cancer Genomics, Bioinformatics, Liquid Biopsy, Next Generation Sequencing

<はじめに>

日本は約2人に1人はがんに罹り、約3人に1人はがんでお亡くなりになる時代になりました。1950年と2010年の病気別の死亡数を人口当たりで比較した、米国のデータ (National Center for Health Statistics) では、心臓病でお亡くなりになる患者さんの数は約30%、脳卒中は約22%、肺炎は約31%まで減りました。しかし、がんに関しては約89%、60年間でわずか10%程度しか減っていません。がんの治療成績は上がっていますが、依然として「がんとの闘い」は続いています。

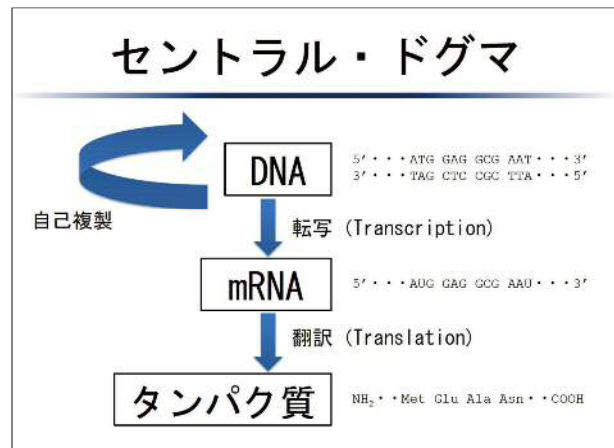


図1

<がんは遺伝子の病気である>

遺伝子解析は1953年に、ワトソンとクリックによるたった1ページのNature誌に掲載された論文で、大きく前進しました。DNAの二重らせん構造の発見です。遺伝子というのは、たった4つの暗号(塩基)でコードされています。アデニン(A)、グアニン(G)、チミン(T)とシトシン(C)です。DNAは自己複製することにより、子孫に遺伝情報を伝えます。DNA上の遺伝子配列は、RNAポリメラーゼによって転写され、タンパク合成(翻訳)を指令します。この原則は、すべての生物で共通であり、セントラルドグマ(図1)と呼ばれます。遺伝子は、タンパク合成をコードするエクソンと呼ばれ

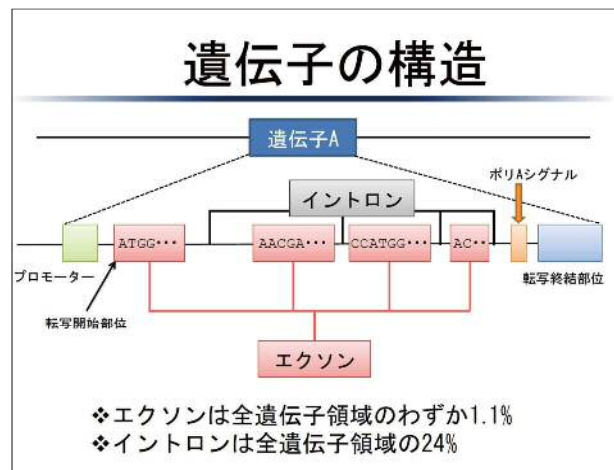


図2

る領域があり、その間はタンパクをコードしないDNA(イントロン)によって隔てられています(図2)。驚くべきことに、遺伝子のうち、生命維持に重要なエクソンは全遺伝子領域のわずか1~2%です。ヒト遺伝子の半分近くは、多数の同じ配列がゲノム上に散在して配列し、散在反復配列とよばれています。

遺伝子はこのように4つの塩基で構成されていますが、この配列の違い(変異:例えばA→T)によ



* Shinichi YACHIDA

1969年11月生
鳥取大学医学部医学科卒(1994年)
現在、大阪大学大学院 医学系研究科
医学部 ゲノム生物学講座 がんゲノム
情報学 教授 博士(医学)
がんゲノミクス
TEL: 06-6879-5111
E-mail: syachida@cgi.med.osaka-u.ac.jp

って異なった体質や病気が引き起こされることがあります。生まれつき（つまり全身の細胞にもっている）の塩基配列の違いは、一塩基多型（例えば、お酒の強い・弱いなど）やそれが病気と関係している場合は生殖細胞系変異と呼ばれます。一方、がん細胞だけがもっている変異は体細胞系変異と呼ばれます。

がん関連遺伝子は大きく二つに分けることができます。①がん遺伝子と②がん抑制遺伝子です。①がん遺伝子は、がんの進展において「アクセル」の役割をします。②がん抑制遺伝子は反対に、がんの進展において「ブレーキ」の役割をしています。①がん遺伝子が活性化するとがんが誘導され、②がん抑制遺伝子は逆に不活化（ブレーキが壊れる）すると、がんが進展・転移します。代表的ながん抑制遺伝子である *TP53* の例を図に示します（図3）。たったひとつの塩基（つまり正常組織ではT、がん組織ではA）が変わることによって、本来なら連続した3つの塩基（TCC）でセリン（S）というアミノ酸からタンパクが作られるのが、ACCに変わったことでスレオニン（T）というタンパクが合成されます。その結果、p53タンパクが、がん抑制遺伝子としての機能が不活化し、がん化が進んでいくこととなります。

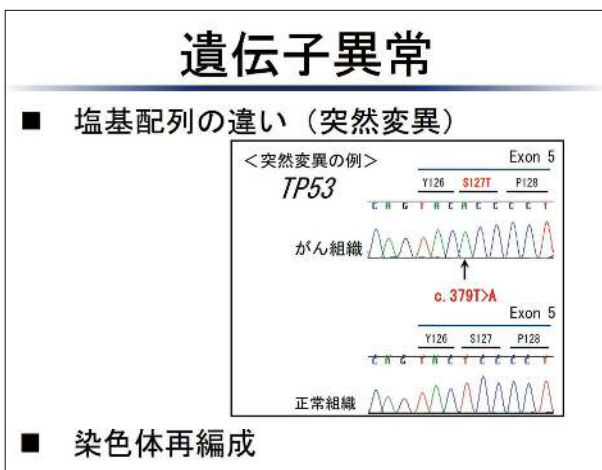


図3

<がん種と遺伝子異常>

次世代シーケンサーをはじめとする近年の遺伝子解析技術の進歩により、約2万2000個といわれているヒトの全遺伝子解析が可能となりました。その結果、同じがんでも発生臓器によって遺伝子異常

が異なることが分かってきました。例えば肺がんでは平均147個の遺伝子異常を認めます。皮膚の悪性黒色腫では平均135個です。一方、胃がんでは平均53個、膵臓がんでは平均45個、肝細胞がんでは平均39個と報告されています。肺がんや悪性黒色腫で飛び抜けて遺伝子変異が多いのは、明らかな発がんの環境要因、つまり肺がんではタバコ、悪性黒色腫では日焼け（UV）のためと考えられています（表）。

膵臓がんでは平均45個の遺伝子異常を認めますが、*KRAS*、*CDKN2A*、*TP53*と*SMAD4*がピック4と呼ばれ、*KRAS*異常は95%、その他の3つのうち全てもしくは2つの遺伝子異常を持っています。その他のがん種でも、膵臓がんほどではありませんが、がん種ごとに高頻度で異常がみられる遺伝子が決まっています。その理由は分かりませんが、発がん臓器の特異性と発がん過程における環境要因が関連していると考えられます。

表：がん種による遺伝子変異数（平均）

成人のがん	遺伝子変異の数
肺がん（小細胞がん）	163
肺がん（非小細胞がん）	147
悪性黒色腫	135
食道がん（扁平上皮がん）	79
非ホジキンリンパ腫	74
大腸がん	66
頭頸部がん	66
食道がん（腺がん）	57
胃がん	53
子宮体がん	49
膵臓がん	45
卵巣がん	42
前立腺がん	41
肝細胞がん	39
膠芽腫（脳腫瘍）	35
乳がん	33
小児のがん	
膠芽腫（脳腫瘍）	14
神経芽細胞腫	12
急性リンパ性白血病	11

<ブルタニカ百科事典に例えると・・・>

しかし、膵臓がんは悪性度の高いがん腫として有名ですが、たった平均45個の遺伝子異常しか認めません。これをブルタニカ百科事典に例えてみます(図4)。ブルタニカ百科事典は32巻ですが、今回は23巻しか使いません(ヒトは22種類の常染色体とXとYの2種類の性染色体を持っているからです)。ブルタニカ百科事典は一卷あたり1000ページ、1ページあたりの文字数は約2000字と大まかに仮定しますと、一卷あたりの文字数は約200万文字で書かれています。ヒトのタンパクをコードする領域(エクソン)の塩基数は全体で約4800万ですので、この百科事典の一卷が一つの染色体で、文字がアデニン(A)、グアニン(G)、チミン(T)とシトシン(C)で書かれていると仮定しましょう。この百科事典を書写する(遺伝子の場合はDNAを複製する)ことになった場合、もし自分が書写をしたとしたら、1ページだけでもたくさんのスペルミスをすると思います。しかし、膵臓がんでは全23巻でたった45個しかスペルミスがないということになります。驚きの精度だと思えます。コンピューターでは、オートコレクト機能が誤入力やスペルミスを修正するように、生物においては「ミスマッチ修復機構」があり、DNA複製の時に生じるミスマッチ(誤写)を校正してくれます。そのような観点からすると、がんというのは、実はわずかな遺伝子の間違いで起こっていることがご理解いただけるかと思えます。

このミスマッチ修復機構に関連する遺伝子に有害な生殖細胞系変異を有する遺伝性の病気が「リンチ

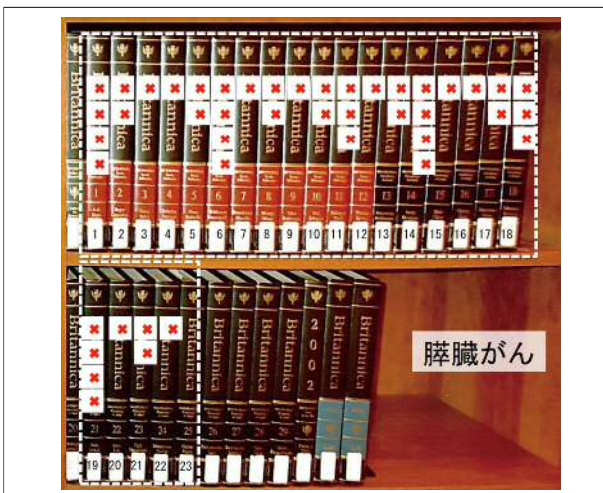


図4

症候群」です。この病気の場合は、がん数千の遺伝子異常を認めます。しかし最近になり、このがんの場合はがん細胞だけに遺伝子異常に伴うたくさんの異常な抗原がありますので、リンパ球ががん細胞だと認識しやすく、免疫療法(免疫チェックポイント阻害剤)がよく効くことが分かってきました。

<がんクローンの進化>

がんというのは、最初から転移能を獲得していたわけではなく、遺伝子異常を蓄積することで進化を遂げます(図5)。つまりがんは、ダーウィンが唱えた生物の進化論によく似た巧妙な手口を備え、環境に適応し生き残ったがん細胞だけが成長し、身体をむしばんでいきます。それでは、がんはどのくらいのタイム・スケールで進化を遂げるのでしょうか? 以前より分子時計という研究分野があります。アミノ酸の配列が動物間で異なり、動物間のアミノ酸の配列の差と動物種の分岐時期に直線関係があることが分かってきました。このことから、突然変異は一定の確率で偶然に発生すると仮定することができ、この考え方を1962年にポーリングらは「分子時計」と呼びました。この理論はがんにも応用可能と考えられ(異論はありますが)、がん細胞の増殖速度と偶然に起こる突然変異の頻度で、がんのタイム・スケールが予測できます。膵臓がんにおいてもがんの自然史を推測したところ、正常の細胞に最初の突然変異が起きてから転移能を獲得するまでには10年以上かかり、膵臓がんは決して早期発見できないがんではないことを発見しました(参考文献:2010年、Nature誌)。ただ実際には、膵臓がんの早期発

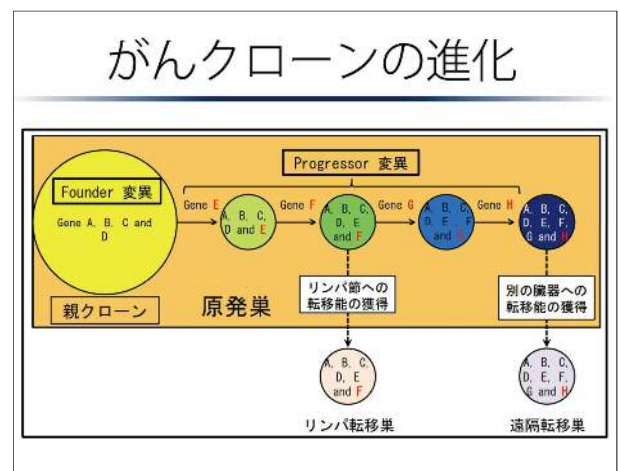


図5

見は非常に難しいのが現状です。これまでの研究成果から、膵臓がんの克服にむけて最も重要な研究課題は、膵臓がんの早期診断法の開発と考えています。

<リキッド・バイオプシー>

近年の遺伝子解析技術の進歩は網羅的な解析のみならず、より少量の核酸（DNAやマイクロRNAなど）から遺伝子変異などの分子診断が可能となりました。リキッド・バイオプシーとは、リキッド＝液、バイオプシー＝生検の意味です。これまでのがん診断は、身体のがん部を太い針で刺し（組織生検）、採取した組織をホルマリンで固定して染色し顕微鏡で観察して、がん細胞を形態学的な観点から診断していました。このリキッド・バイオプシーは、最新のテクノロジーを駆使して、血液や体液（つまり液体成分）を用いて、核酸（DNAなど）を抽出して、がんを診断するものです。私たちのグループは特に、血漿（血液の上澄み）中の遊離DNAを用いて研究を行っています（図6）。最近の産科領域では、羊水ではなく血液を用いて出生前診断が出来るようになりましたが、解析手法は基本的に同じです。妊婦の血漿にはお母さん由来のDNAのかけらと赤ちゃん由来のDNAのかけらが存在するのと同様に、がん患者には正常組織由来のDNAのかけらとがん組織由来のDNAのかけらが存在します。

「がんは遺伝子の病気である」ことから、血漿中のDNAを用いてがんの診断を行うことが出来れば、患者さんへの負担が小さく（非侵襲的）、組織生検が難しい患者さん（例えば身体の奥の方にあるがん腫や体調のすぐれない患者さんの場合など）にも採

血で対応でき、さらに治療経過に伴って（例えば再発時など）繰り返し行えることから、患者さんに優しい次世代のがん診断法と期待されています。さらに、薬剤の治療標的となる遺伝子異常を見つけることが出来れば、副作用の少ないがんのプレジジョン・メディスンにつながると考えています。

<おわりに>

がんゲノム研究は次世代シーケンサーとともに大きく進歩しました。一人の全ゲノム解析が2003年には約300億円かかりましたが、今は約10万円で出来る時代となりました（試薬費のみの値段で、実際はもう少しかかります）。つまり、工学の進歩によって、ゲノム研究は大きく前進しました。がんの網羅的なゲノム解析はほぼ終了し、その成果を患者さんに還元する時代が到来しています。いわゆる「ゲノム医療」です。しかし、それに伴い膨大なデータを扱う必要が出てきました。このようなビックデータを扱う、情報解析を行うバイオインフォマティクスが医療の現場では、主役の一人になりつつあります。大阪大学に赴任するにあたり、講座の名前を「がんゲノム情報学」といたしました。これからはこのような膨大な「情報」をうまく利用して、患者さんにベストな治療を提供する時代だと考えています。

医学研究というのは、最終的には臨床の現場、つまり患者さんにその成果を還元してこそ意義のあるものです。ゲノム研究をしていると、星の数ほど新しい発見や面白い研究はあります。しかし、人生において研究に全う出来る時間は限られていますので、患者さんに少しでも早く成果が還元できるような研究を続けていきたいと考えております。最後まで、お読みいただきありがとうございました。

<参考文献>

1. Yachida, S., Jones, S., Bozic, I., et al. Nature 467: 1114-1117 (2010)
2. Campbell, P. J., Yachida, S., Mudie, L. J., Nature 467: 1109-1113 (2010)
3. Takai, E., Totoki, Y., Nakamura, H., et al. Sci Rep 5: 18425 (2015)

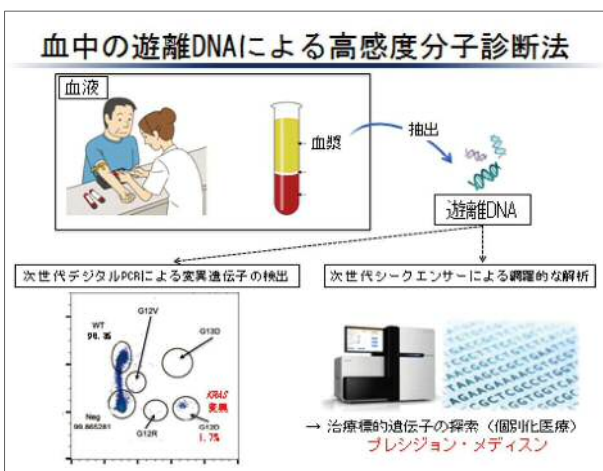


図6