

BRCA1 がん抑制遺伝子のハプロ不全は、 細胞内の鉄代謝の攪乱とフェロトーシス抵抗性を誘導することにより、 クリソタイル(白石綿)曝露後の悪性中皮腫の発生を促進する

国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学大学院医学系研究科(研究科長:木村 宏)生体反応病理学の豊國 伸哉(とよくに しんや)教授、羅 亜光(ろう やぐあん)大学院生の研究グループは、国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構の今岡 達彦(いまおか たつひこ)博士による研究グループとの共同研究により、ヒトの遺伝性乳癌・卵巣癌症候群^{※1}(HBOC; hereditary breast and ovarian cancer syndrome)の原因がん抑制遺伝子 *BRCA1*^{※2} のハプロ不全^{※3} は *Brca1*^{L63X/+}ラットモデルにおいてクリソタイル^{※4}(白石綿)による腹膜悪性中皮腫^{※5} の発生を促進することを明らかにしました。

本研究により、*BRCA1* 生殖細胞変異が、雄のラットにおいてクリソタイルによる中皮腫発生を促進することを発見しました。関連する発がん機構として、ゲノムの不安定性(ゲノム内の欠損領域増加、特に *Cdkn2a/2b* がん抑制遺伝子)、細胞内鉄環境の変化とフェロトーシス抵抗性^{※6} を誘導することが示唆されています。遺伝性乳癌・卵巣癌症候群の原因がん抑制遺伝子 *BRCA1* の生殖細胞変異を持つ男性保因者においては、クリソタイルが重要かつ回避可能な発がんリスクの可能性があります。

本研究は、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業 CREST「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」研究領域(研究総括:馬場 嘉信・名古屋大学教授)における研究課題名「細胞外微粒子への生体応答と発がん・動脈硬化症との関連の解析」(研究代表者:豊國 伸哉・名古屋大学教授)(JPMJCR19H4)の支援を受けたものです。

本研究成果は科学誌「Cancer Science」(オンライン版)2022年12月21日に掲載されました。

ポイント

- ラット *Brca1*^{L63X/+}モデルでは、雄において、クリソタイル(白石綿)投与による中皮腫発症が促進された
- *Brca1*^{L63X/+} のクリソタイル誘発中皮腫では、より長い領域のゲノム欠失が起こり、特に *Cdkn2a/2b* 遺伝子の欠損が高頻度に発生した
- BRCA1 ハプロ不全の状態では、アスベスト曝露後の中皮細胞において、細胞内鉄環境の変化とフェロトーシス抵抗性が促進された

1. 背景

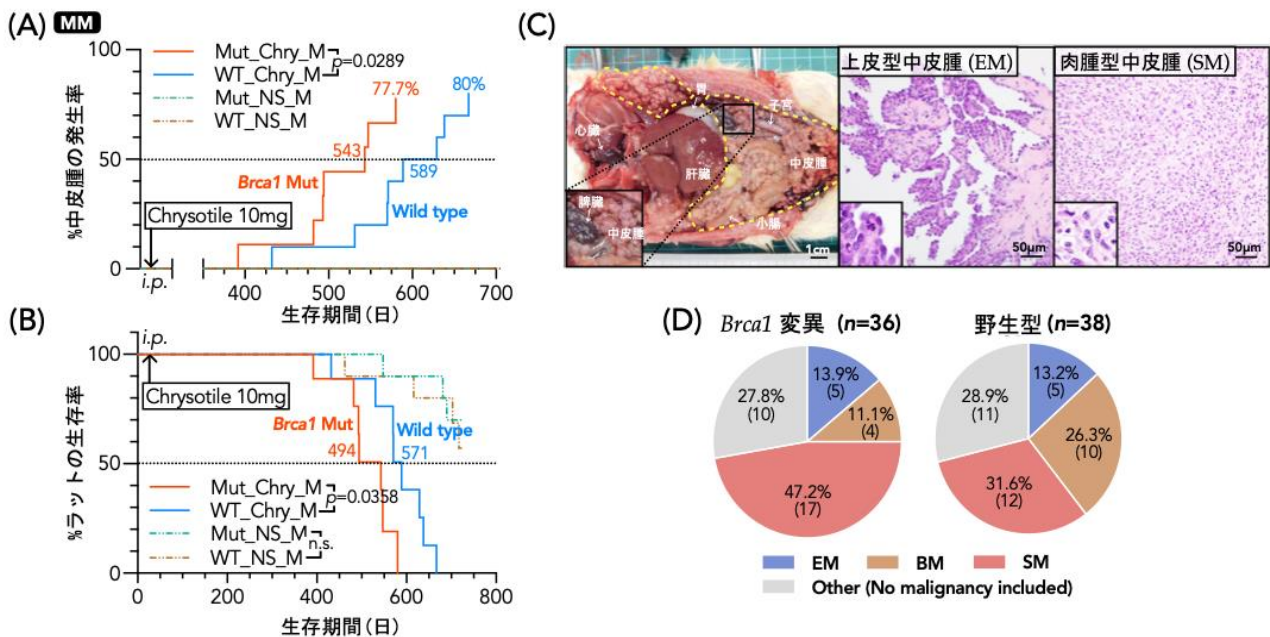
職業性あるいは環境からのアスベスト曝露により発生する悪性中皮腫は、社会にとって大きな負担であり、前世紀から広く問題視されています。アスベストによる中皮腫の発生には、局所の鉄過剰、活性酸素種の発生、それに伴う DNA 二本鎖切断などが重要です。BRCA1 がん抑制遺伝子は相同組み換え修復の重要な因子であり、その生殖細胞変異は乳がんおよび卵巣がんのリスクとして確立されていますが、中皮腫との関連はまだ解明されていませんでした。本研究では BRCA1 生殖細胞変異と中皮腫の発生リスクの関係を評価しました。

2. 研究成果

(1) *BRCA1*^{L63X/+}雄ラットは悪性度の高い腹膜中皮腫を発症しやすい(図1)

クリソタイル(Chrysotile; Chry)を腹腔内投与した *Brca1*^{L63X/+}変異(Mut)の雄(M)ラットでは、野生型(WT)と比較して早期に腹膜悪性中皮腫が発生しました。また、*Brca1*^{L63X/+}変異群で発生した中皮腫は、悪性度の高い肉腫型(SM)の割合が高く、細胞増殖能を反映するKi-67陽性率も高いことがわかりました。中皮腫細胞の悪性度を反映する核グレードを分析すると、高い核グレードは生存率と負の相関をとり、クリソタイルを注射した *Brca1*^{L63X/+}雄ラットのMMで野生型より有意な高値を示しました。

(図1)



(2) *Brca1*^{L63X/+}変異の中皮腫では染色体の変異や *Cdkn2a/2b* の欠失が増加した

アレイ CGH 解析^{※7}により、*Cdkn2a/2b* 遺伝子の欠損は *Brca1*^{L63X/+}変異群に発生した中皮腫で頻度が高いことが確認されました。*Cdkn2a* の FISH 分析^{※8}により、*Brca1*^{L63X/+}変異群の中皮腫[9/12(75%)]において野生型の中皮腫[5/13(38.5%)]よりも高頻度の *Cdkn2a* 欠失を認めました。

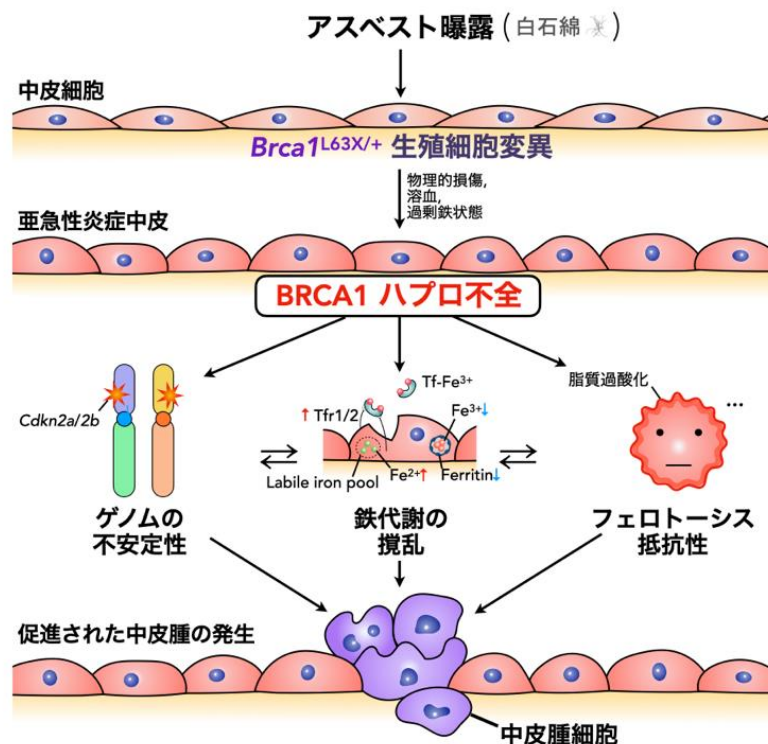
(3) BRCA1 ハプロ不全は中皮腫発がん過程において細胞内鉄代謝を攪乱し変化させる

Brca1^{L63X/+}変異体群と野生型群の中皮腫においては、鉄代謝に関する遺伝子のコピー数や発現に相違を認めました。特に、クリソタイルで誘発された *Brca1*^{L63X/+}変異の中皮腫(3/6)は、野生型(1/6)に比して *Tfr2* 遺伝子の増幅を認めました。野生型と比べ *Brca1*^{L63X/+}変異の中皮腫は *Tfr1* の発現が有意に上昇し、細胞内二価鉄も有意な増加を認めました。一方、IRP1 の発現は低下しており、細胞内鉄監視機構である IRE/IRP システムが不活性化されていることがわかりました。フェリチン発現レベルの低下を伴う不溶性三価鉄の減少は、*Brca1*^{L63X/+}変異群中皮腫の貯蔵用鉄量の減少を意味しました。

(4) BRCA1 ハプロ不全はクリソタイル曝露後の中皮細胞におけるフェロトーシス抵抗性を誘導しやすい(図2)

最後に、中皮腫におけるフェロトーシス経路の変化を検討したところ、がん抑制遺伝子であるBAP1の発現低下に加え、xCTやGPX4の発現上昇を確認しました。同時に、フェロトーシス・マーカー(HNEJ-1やPTGS2)の発現は減少し、*Brca1*^{L63X/+}変異群の白石綿曝露後の中皮細胞においてフェロトーシス抵抗性が形成されやすいことがわかりました。

(図2)



3. 今後の展開

本研究成果により、クリソタイル(白石綿)誘発性中皮腫発がん機構の一端が解明されました。また、クリソタイル曝露後早期の中皮細胞において、BRCA1 ハプロ不全は、複数の機構を介して中皮腫の発生を促進することが明らかとなりました。*BRCA1*^{L63X/+}生殖細胞変異の男性保因者においては、クリソタイル曝露が重要かつ回避可能な発がんリスクである可能性があります。今後はヒトにおける検証が必要です。

4. 用語説明

※1 遺伝性乳癌・卵巣癌症候群(HBOC; hereditary breast and ovarian cancer syndrome)

*BRCA1*あるいは*BRCA2*の生殖細胞系列の異変に起因する乳癌および卵巣癌をはじめと

するがんの易罹患者症候群であり、常染色体優性遺伝形式を示す。

※2 BRCA1(マウスやラットでは Brca1 と表記)

BRCA1 タンパク質は、細胞内で DNA に生じた二本鎖切断を修復することに関わっている中心的タンパク質の一つ。L63X/+は *BRCA1* 遺伝子の片側のアレルにおいて、コドン 63 のロイシンがストップコドンになっている遺伝子型であることを意味する。

※3 ハプロ不全

通常は 1 対 2 本の遺伝子の 1 本が不活性化されるために、この遺伝子由来のタンパク質の量が不十分となり、そのために何らかの病的状態が現れること。

※4 クリソタイル(白石綿)

しなやかな構造をもち、結晶構造には鉄を含有しない石綿。白石綿ともよばれ、過去には吹きつけアスベストとして家屋で多量に使用された。

※5 悪性中皮腫(単に中皮腫ともよばれる)

胸腔や腹腔など、体腔の表面を覆う中皮細胞由来の悪性腫瘍である。発症部位の特性から早期診断は極めて困難。診断後は、化学療法、外科療法、放射線療法による集学的な治療がなされているが、標準的なプロトコールはまだ試験的な段階であり、予後が悪い腫瘍として知られている。

※6 フェロトーシス抵抗性

フェロトーシスは 2012 年に新たに提唱された細胞死の概念であり、脂質過酸化を伴う触媒性 Fe(II)依存性に起こる壊死形態の細胞死と定義されている。フェロトーシスは鉄と抗酸化を担う硫黄の相対的比が鉄有意に傾くことで開始される。フェロトーシス抵抗性とは、変異獲得など種々の分子機構により、この細胞死に対して抵抗性が発生していることを指す。

※7 アレイ CGH 解析

ゲノム DNA の増幅や欠損といったコピー数異常を、全ゲノムにわたって検出する方法。異なる蛍光分子で標識した腫瘍組織由来ゲノム DNA と正常組織由来のゲノム DNA を、マイクロアレイ上で競合的にハイブリダイゼーションさせる。そのシグナル強度を比較解析することにより、腫瘍細胞におけるゲノム DNA のコピー数変化を詳細に解析することが可能である。

※8 FISH 分析

蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法。蛍光物質をつけたプローブ(標的遺伝子と相補的な塩基配列を有する合成遺伝子)を標的遺伝子と結合させ、蛍光顕微鏡下で可視化する手法。今回の場合は、遺伝子のコピー数を1つの細胞ごとに評価可能である。

5. 発表雑誌

掲載誌:Cancer Science

論文タイトル:BRCA1 haploinsufficiency impairs iron metabolism to promote chrysotile-induced mesothelioma via ferroptosis-resistance

著者・所属:Yaguang Luo¹, Shinya Akatsuka¹, Yashiro Motooka¹, Yingyi Kong¹, Hao Zheng¹, Tomoji Mashimo^{2,3}, Tatsuhiko Imaoka⁴ and Shinya Toyokuni^{1,5}

¹ Department of Pathology and Biological Response, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan;

² Division of Animal Genetics, Laboratory Animal Research Center, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan;

³ Division of Genome Engineering, Center for Experimental Medicine and Systems Biology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan;

⁴ Department of Radiation Effects Research, National Institute of Radiological Sciences, National Institutes for Quantum Science and Technology, 4-9-1, Anagawa, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan;

⁵ Center for Low-temperature Plasma Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan

DOI:10.1111/cas.15705

English ver.

<https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical E/research/pdf/Can 230118en.pdf>