

# BRCA1 がん抑制遺伝子のハプロ不全是、 フェントン反応を基盤とする発がん過程において、 フェロトーシス抵抗性を獲得することにより染色体増幅を促進する

名古屋大学大学院医学系研究科生体反応病理学の孔 穎怡（こう えいい）大学院生、豊國 伸哉（とよくに しんや）教授の研究グループは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<sup>※1</sup>(hereditary breast and ovarian cancer syndrome; HBOC)に相当する Brca1(L63X/+)ラットモデルを使用する実験を通じて、過剰鉄を介した酸化ストレス<sup>※2</sup>による発がんが促進されることを明らかにしました。また、その際、野生型のがんに比べて染色体レベルの増幅が有意に増え、さらに HBOC 患者乳癌で増幅している染色体に対応する領域での増幅を認めました。さらに、その分子機構はミトコンドリア傷害が起こりやすいため鉄が過剰に蓄積して、最終的にフェロトーシス抵抗性<sup>※3</sup>を早く獲得していることがわかりました。今後、HBOC 患者の乳腺・卵巣などの発がん標的臓器において酸化ストレスを軽減する手立てがわかれば、発がん予防効果が期待され、乳房や卵巣の若年での切除が不要となり、クオリティ・オブ・ライフを改善できる可能性があります。本研究結果は科学誌である「Redox Biology」（2022 年電子版）に掲載されました。

## ポイント

- ヒトの乳癌・卵巣癌の高リスクに関与する BRCA1 がん抑制遺伝子のモデルをマウスで再現することはこれまで困難であった
- 今回、Brca1(L63X/+)ハプロ不全<sup>※4</sup>ラットモデルを使用すると、フェントン反応<sup>※5</sup>による腎臓癌発生を促進することがわかった
- Brca1(L63X/+)ハプロ不全ラットモデルでは野生型に比べて染色体レベルのゲノム増幅を多く認めた
- Brca1(L63X/+)ハプロ不全ラットモデルの腎臓癌では、ヒト BRCA1 病的バリエントを有する患者の乳癌と同様の遺伝子増幅を認めた
- Brca1 ハプロ不全ラットモデルでは発がん過程でミトコンドリア傷害がより強く、フェロトーシス抵抗性を早期に獲得していた

## 1. 背景

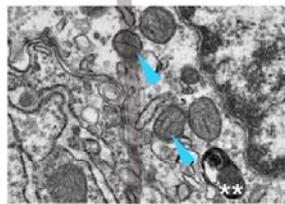
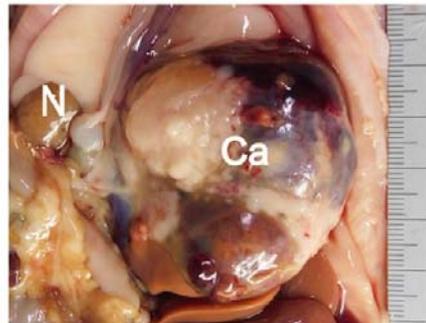
がんは 1981 年以来、日本人死因の第 1 位です。その原因としては、喫煙や種々の化学物質など、さまざまな外因性の要因が明らかにされてきましたが、内因性の要因も無視することはできません。乳癌や卵巣癌の 5~10%は遺伝要因の関わるものであり、その最も多いものが遺伝性乳癌卵巣癌症候群(HBOC; hereditary breast and ovarian cancer syndrome)になります。HBOC では、BRCA1 あるいは BRCA2 というがん抑制遺伝子に、生まれつき変異（病気を起こすバリエント）が入っていることがこの遺伝性がんの原因であることが確立されており、病気を起こすバリエントの保持者は生涯に渡り乳癌および卵巣癌を発症するリスクが高くなります。たとえば、一般集団が一生涯に間

に乳癌になる確率は12%ほどですが、BRCA1 変異があると46~87%になることが知られていますし、卵巣癌に関しては1~2%が39~63%になることが知られています。そのため、BRCA1 や BRCA2 のバリエーション保持者がいることが分かった場合には、リスク低減乳房・卵巣切除術もガイドラインにより推奨されており、保険適用にもなっています。

このように臨床的には十分に認知されているのですが、BRCA1 や BRCA2 が抑制遺伝子の変異によりどうしてがんが発生しやすいのか、その分子機構や促進因子は必ずしもわかっていませんでした。また、マウスを使用した遺伝子改変モデルでも、これまでヒトに対応するような結果は得られていません。今回の研究では、上記の疑問を解決するような実験を試みました。

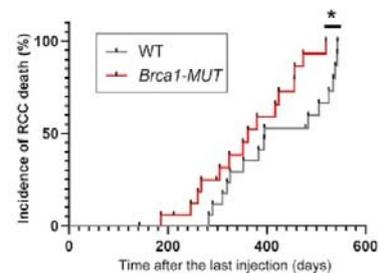
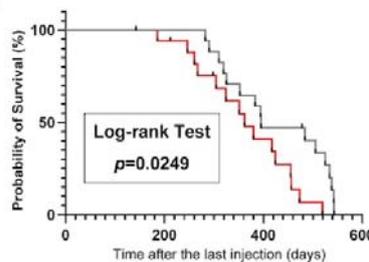
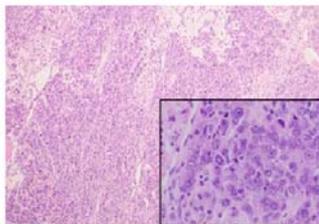
**BRCA1(L63X/+)**  
vs 野生型 (WT)  
変異ラット (MUT)

ハプロ不全  
鉄  
フェントン反応による  
酸化ストレス誘発腎がんモデル

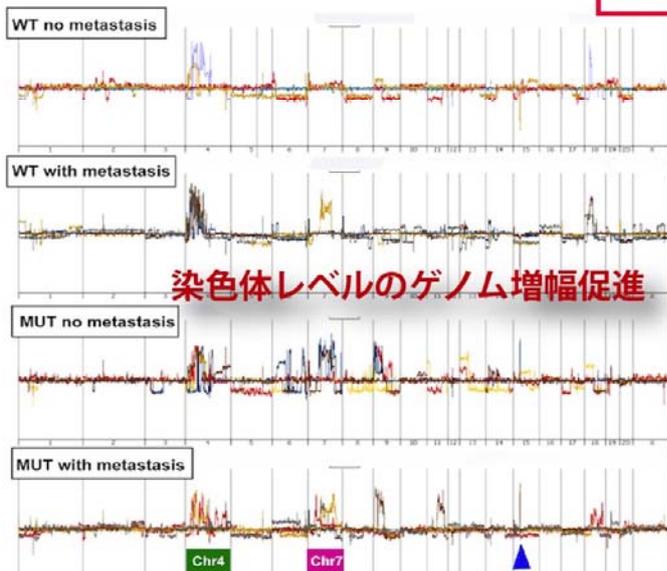


ミトコンドリア傷害

発がんの促進

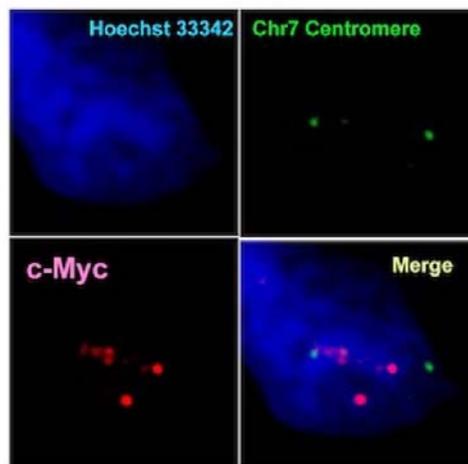


**HBOC 乳癌とゲノム相同部位の増幅**



染色体レベルのゲノム増幅促進

**C-Myc 増幅**



## 2. 研究成果

### (1) 新しいラット BRCA1 変異モデルで発がんの促進

最近確立されたラットの BRCA1 変異モデル(L63/+)の雄動物を使用して、鉄ニトリロ三酢酸(Fe-NTA)投与による腎臓発がんモデル実験を行い、変異のあるラットと変異のないラットの間で比較しました。2年以上にわたるこの実験の結果、変異のあるなしで最終的な発がん率に変化はないが、変異があると有意に早く発がんがおこることがわかりました（前頁図：Ca、腎臓癌；N、非腫瘍対側腎；RCC、腎臓癌）。また、予想外に、変異があってもできた腎癌でも BRCA1 タンパク質の発現は残っており、他のがん抑制遺伝子とは異なり、正常な BRCA1 アレル<sup>\*6</sup>が不活化されることで発がんがおこるのではなく、遺伝子が1アレルしかないために BRCA1 タンパク質の量が十分ではないことが発がんに重要であることがわかりました。これはハプロ不全とよばれる状態です。

### (2) 鉄を介した酸化ストレスによる BRCA1 変異ラットのがんで染色体レベルのゲノム増幅が増加

アレイ CGH とよばれる方法で、変異のあるラットと変異のないラットから発生した腎臓癌のゲノムの変化を検討しました。すると、変異のないラットのがんでは染色体レベルでゲノムは失われることが多いのに対して、変異のあるラットのがんではゲノムの増幅が有意に頻度高くおこることがわかりました。さらに、増幅したゲノムの位置は BRCA1/2 バリエーション保持者の乳癌のゲノム変化に対応した場所で起こっていました。さらなる解析で、がんの悪性化に関係した c-Myc がん遺伝子が共通して増幅していることが明らかとなりました。

### (3) 発がん初期の解析で、BRCA1 変異ラットではミトコンドリア傷害を伴う鉄代謝異常から、フェロトーシス抵抗性確立の促進を認める

上記の結果の発生機構を探索するため、3週までの発がんの初期に関して解析しました。すると、ミトコンドリア傷害が BRCA1 変異ラットで強いことが判明し、それに伴って鉄沈着の増加がおこり、それに伴う酸化ストレスに対抗する分子機構として、フェロトーシス抵抗性が確立されていることがわかりました。

### (4) 結論

BRCA1 遺伝子が2アレルあることで、過剰鉄を介した酸化ストレスに伴う発がん過程において、ゲノムの増幅を抑制し、フェロトーシス抵抗性の獲得を予防していることがわかりました。

## 3. 今後の展開

本研究成果により、BRCA1 関連発がんのリスクとして、過剰鉄に伴う酸化ストレスが初めて認知されました。今後、さまざまな検証が必要にはなりますが、乳腺や卵巣特異的に鉄や酸化ストレスを軽減する方法を考案できれば、現在、ガイドラインにあるようなリスク低減乳房・卵巣切除術が必要ではなくなり、クオリティ・オブ・ライフを改善できる可能性があります。

#### 4. 用語説明

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

遺伝的に乳癌や卵巣癌を多発する疾患(家族性腫瘍)であり、BRCA1 あるいは BRCA2 がん抑制遺伝子の片側のアレルが変異バリエーションとなっている。HBOC 関連乳癌は 44 才未満の若年で発症することが多く、両側の乳房に発生するリスクが高い。HBOC 患者では生涯がん発症率が、乳癌では BRCA1 で 46~87%、BRCA2 で 38~84%、卵巣癌では BRCA1 で 39~63%、BRCA2 で 16.5~27%に及ぶとされる。さらに、男女で膀胱癌、男性では乳癌、前立腺癌のリスクでもあることが報告されている。

※2 過剰鉄による酸化ストレス :

過剰鉄状態では触媒性 Fe(II)が増加しフェントン反応を促進する。この化学反応 ( $\text{Fe(II)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe(III)} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$ ) は生体内で最も反応性の高い化学種である  $\cdot\text{OH}$  (ヒドロキシルラジカル)を生じる反応であり、Fe(II)はこの反応を触媒する。ヒドロキシルラジカルが酸化ストレスをおこし、その結果発生するゲノム DNA の傷害は変異(ゲノム情報の改変)のリスクを上げる。

※3 フェロトーシス抵抗性 :

フェロトーシスは 2012 年に初めて提唱された細胞死の概念であり、触媒性 Fe(II)依存性におこる壊死形態の細胞死であり、脂質過酸化を伴う。フェロトーシスは鉄と抗酸化を担う硫黄の相対的な比が鉄有意に傾くことで始まるが、この細胞死に対して変異獲得など種々の分子機構によって抵抗性が発生していることをさす。

※4 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(表現型)が現れること。

※5 フェントン反応 :

$\text{Fe(II)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe(III)} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$  は生体内で最も反応性の高い化学種である  $\cdot\text{OH}$  (ヒドロキシルラジカル)を生じる化学反応であり、Fe(II)はこの反応を触媒する。

※6 アレル :

常染色体上では 1 対 (2 本) 存在する対立遺伝子の一方を指す。1 本は父親、もう 1 本は母親由来である。

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。

#### 5. 発表雑誌

掲雑誌名: Redox Biology

論文タイトル: BRCA1 haploinsufficiency promotes chromosomal amplification under Fenton reaction-based carcinogenesis through ferroptosis-resistance

著者 : Yingyi Kong<sup>1</sup>, Shinya Akatsuka<sup>1</sup>, Yashiro Motooka<sup>1</sup>, Hao Zheng<sup>1</sup>, Zhen Cheng<sup>1</sup>, Yukihiro Shiraki<sup>2</sup>, Tomoji Mashimo<sup>3,4</sup>, Tatsuhiko Imaoka<sup>5</sup> and Shinya Toyokuni<sup>1,6</sup>

所属名 : <sup>1</sup>Department of Pathology and Biological Responses, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

<sup>2</sup>Department of Tumor Pathology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

<sup>3</sup>Division of Animal Genetics, Laboratory Animal Research Center, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

<sup>4</sup>Division of Genome Engineering, Center for Experimental Medicine and Systems Biology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

<sup>5</sup>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

<sup>6</sup>Center for Low-temperature Plasma Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan

DOI : 10.1016/j.redox.2022.102356

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Red\\_220606en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Red_220606en.pdf)