

氏 名 秦 千比呂

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 2165 号

学位授与の日付 2020 年 3 月 24 日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Comprehensive search for genetic predisposition to breast
cancer based on multigene panel testing

論文審査委員 主 査 教授 北野 潤
教授 前島 一博
准教授 池尾 一穂
准教授 川本 祥子
分野長 井本 逸勢
愛知県がんセンター研究所分子遺伝学分野

(様式3)

博士論文の要旨

氏名 Hata, Chihiro

論文題目 Comprehensive search for genetic predisposition to breast cancer based on multigene panel testing

Breast cancer is the most common cancer in women. It has been a long-known disease about its pathological conditions. Approximately 10% of women develop breast cancer during their lifetime. There are several subtypes of breast cancer, and appropriate treatments are selected based on the subtypes. For example, PARP inhibitor has been demonstrated to be very effective in treating for patients with triple negative breast cancer (TNBC). The presence of germline mutations on specific genes can be a marker for selecting effective treatments. With advancements in DNA sequencing technologies, many genes including *BRCA1/2* have been shown to be associated with breast cancer. Recently, multigene panel testing has been conducted to detect pathogenic variants in breast cancer patients. However, there are several issues such as selection of appropriate genes and lack of information for accurate classification of pathogenic variants in populations other than European-descent populations. In this doctoral thesis, I attempted to search for pathogenic germline mutations in Chinese patients with breast cancer using multigene panel testing.

I investigated genotype-phenotype correlations in Chinese patients with breast cancer by using next-generation sequencing data for 54 breast cancer predisposition genes. First, I conducted multigene panel testing for 583 Chinese patients with breast cancer. I detected 78 pathogenic mutations comprising 43 single nucleotide variants (SNVs) and 35 short insertions and

deletions (INDELs). In other words, 14.2% of the patients had pathogenic mutations (83/583). The utility of the multigene panel was demonstrated by the fact that the pathogenesis of a larger number of the patients was identified compared to genetic testing focusing only on *BRCA1/2*. Furthermore, I showed that pathogenic germline mutations were associated with several clinical features of breast cancer including TNBC and histological grades. On the other hand, I found that there were two issues emerged: 1) Even after the 54 genes were evaluated, the proportion of the patients whose pathogenesis were not clearly explained was still high, and 2) a large number of variant of uncertain significance (VUS) was detected as the bad side of using the multigene panel.

Second, I focused on the fact that a general application of pathogenic mutation search was limited to SNVs and short INDELs. I hypothesized that exploration of intermediate-sized INDELs (50 bp to 10,000 bp) in breast cancer patients was useful to resolve the first issue emerged in the previous chapter. By examining intermediate-sized INDEL by using a state-of-the-art tool together with deep bioinformatics analyses, I identified a novel intermediate-sized deletion–insertion in *PTEN* α , which can be a disease risk factor for breast cancer and illustrated the importance of examining intermediate-sized INDELs in multigene panel testing. To my best knowledge, this is the first report of pathogenic mutation on a translational variant of *PTEN* gene in breast cancer.

Third, I formulated a methodology to assess the association between the burden of rare and harmful VUSs and breast cancer risk. The biggest problem in multigene panel testing is that VUSs have been detected in about 30% of patients who underwent multigene panel testing, but VUS information has not

been fully used to determine treatment strategy. I thought that a part of VUSs detected in the multigene panel testing were harmful mutations and could be involved in the etiology of breast cancer. I applied rare exome variant ensemble learner (REVEL) score that was an ensemble method for predicting the pathogenicity of missense variants to estimate functional damage for the protein by VUSs. The results showed that VUSs, which were predicted to have a detrimental effect on gene function at a very low frequency, were significantly more abundant in breast cancer patients who did not have other distinct pathogenic variants. The result in the first in the world to incorporate the concept of the burden test and to demonstrate the association between VUS and breast cancer.

In conclusion, the results of my study contribute to discoveries of many of novel pathogenic germline mutations in East Asian population. In addition, the result from the analysis for the association between VUS and breast cancer risk will provide clues for new therapeutic strategies targeted to POP with harmful VUS.

Results of the doctoral thesis screening

博士論文審査結果

Name in Full
氏名 秦 千比呂

Title
論文題目 Comprehensive search for genetic predisposition to breast cancer based on multigene panel testing

乳癌は女性において最も多い癌であるが、その 10%において遺伝的要因の関与が示唆されている。これまでの乳癌の遺伝子解析は、BRCA1/2 などの少数の遺伝子だけを対象としていたり、ヨーロッパ系集団を対象として行われたりしたものが多く、BRCA1/2 以外の多数の癌関連遺伝子を含むマルチジーンパネル遺伝子検査のヨーロッパ系以外の集団における有用性については殆ど明らかになっていなかった。本博士論文において秦さんは、583 名の中国人（漢民族）乳癌患者の DNA 配列データを用いて、マルチジーンパネル遺伝子検査の有用性と改善点の評価を行った。

その結果、秦さんはまず、これまでに報告のない新規の遺伝的リスク変異を多数同定した。このことは、集団ごとに変異情報を蓄積することの重要性を示している。また、PALB2 の変異が、トリプルネガティブ乳癌と相関があるなど、臨床的特性と関連する変異も同定した。このことから、マルチジーンパネル遺伝子検査が、治療法選択等の臨床応用に有用となる可能性も示唆された。

つぎに、マルチジーンパネル検査の有用性をさらに改善することを目的として、従来の次世代シーケンス解析結果からは抽出が難しく、従ってあまり解析されてこなかった中サイズの indel（挿入・欠失）を網羅的に探索し見出す手法を確立した。実際に同手法により、患者サンプルから癌抑制遺伝子の PTEN に生じた indel の同定に成功した。

最後に、マルチジーンパネル検査の結果として約 30%の患者に VUS(臨床的意義が不明な変異[variant of uncertain significance])が検出されたが、マルチジーンパネル検査が普及していく現在、このような VUS の評価は大きな課題となってきた。そこで、秦さんは、これら VUS の臨床的意義を検討するために、これら変異のバイオインフォマティクス解析を行った。その結果、通常集団内でのアレル頻度が低く、また、遺伝子機能に有害な影響を及ぼすとバイオインフォマティクスの予測されるような VUS が、他の明確な病変変異を持たない乳癌患者において多く集積している傾向があることを見出した。この知見は、従来のアプローチで見逃されていた VUS の中にも重要なリスク因子が存在している可能性を示唆するものである。

以上の一連の知見は、東アジア集団における乳癌関連変異の情報を提供することとどまらず、マルチジーンパネル検査の重要性とその具体的な改良点をいくつか提示している点において、遺伝的要因で生じる疾患の研究分野に大きく貢

献する成果であると考えられ、高く評価できる。学位論文は明快な英語で書かれており、また研究の一部はすでに英文国際誌に発表されている。以上の理由により、審査委員会は、本論文が学位の授与に値すると判断した。