

【目的】 本研究では、がん患者の大規模ゲノム情報を用いて情報統計学的アプローチにより遺伝子変異を機能構造単位に集積する変異集積として捉え、分子シミュレーションによる表現型理解を実験データと融合させることで、体系的な遺伝子変異の機能アノテーション法を構築することを目的とする。

【方法】 本研究では、がん変異データベース GENIE (<https://www.aacr.org/professionals/research/aacr-project-genie/>) に登録される7万個以上の遺伝子変異に対して、コンピュータを用いるインシリコ技術によりがんの進化の過程での正の選択やタンパク質の可動性への影響を評価した。実験手法による変異機能アノテーションとして、変異クラスター構成遺伝子変異を発現する細胞モデルと精製タンパク質を作製し、形質転換能やタンパク質相互作用解析を行った。解析対象変異を導入し、タンパク質の安定性変化やエネルギー変化に着目した分子動力学シミュレーション計算より機能推定を行った。

【結果】 71,756個の変異体を対象とした計算機シミュレーションによる変異選択と、110個の代表的なRET変異体の網羅的機能解析により、複数のヒト癌が保有する発がんや治療における意義がわからない意義不明変異(VUS: variants of unknown significance)の3次元クラスターを明らかにした。これらの変異体はRearranged during transfection (RET)タンパク質のカルモジュリン様モチーフ(CaLM)におけるアミノ酸置換を引き起こす。分子動力学シミュレーションの結果、CaLM変異はCa²⁺イオン周辺の相互作用を減少させ、CaLMを含むRETシステインリッチドメインの立体構造に歪みを引き起こすことが示された。RETのCaLM変異は、異常なジスルフィド結合形成を介したRETタンパク質のホモ二量化により、リガンド非依存的にRETキナーゼを構成的に活性化させることがわかった。RET CaLM変異体のがん原性/腫瘍形成活性は、RETを標的とする既存のチロシンキナーゼ阻害剤によって抑制された。本研究は、カルシウム結合低下変異を従来のRETがん遺伝子における新しいタイプのがん原性変異群として同定するとともに、治療標的であるがん遺伝子のVUSをインシリコ手法によりアノテーションすることが今後の有望な治療戦略となることを示すものである。

分子シミュレーション駆動による変異アノテーション

