

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K16846

研究課題名（和文）甲状腺癌未分化転化前後のペア検体を用いた転化メカニズムの解明

研究課題名（英文）Genetic alteration in anaplastic transformation mechanism in same patients

研究代表者

ソバティ ソフィア（SUBAT, Sophia）

公益財団法人がん研究会・がん研究所 病理部・研究員

研究者番号：80774158

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、同一症例の分化癌と未分化癌で得られた遺伝子変異プロファイルと比較し、転化メカニズムを特徴づける遺伝子を同定することである。同一症例内で乳頭癌と未分化癌のペア検体において、BRAFおよびMAP3K1を含む少数の共通変異が見られ、未分化癌ではTP53を含むドライバー因子を含めたプライベート遺伝子変異が多く観察されたことから、共存する成分の早期分離と独立進化を示唆した。一方、異時性濾胞型乳頭癌と未分化癌のペア検体において、濾胞型乳頭癌は未分化癌よりも多くの体細胞変異が観察された。BRAFなど遺伝子の変異はPI3K活性化と発癌未分化転換を引き起こす可能性があると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

甲状腺未分化癌は悪性度が極めて高く、症例数が少ないため、検体の入手が困難である。したがって、そもそも未分化癌自体の報告が少ない。さらに、同一患者内で未分化転化前後の検体を利用されるケースは極めて限られている。本研究では、初めて同一症例における乳頭癌・未分化癌の成分を用いて全ゲノムシーケンス、初めて同一症例における濾胞型乳頭癌と未分化癌成分を用いて全エクソームシーケンスを行なった研究である。同一患者における2つの異なる腫瘍成分の分岐進化起源を示すのに役たち、分化癌および未分化癌の関係について理解を深める可能性を与えると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In the current study, we performed next-generation sequencing of DNA from the extremely rare two case patients of concomitant PTC and ATC components, as well as one case of metachronous FVPTC and ATC components, along with their corresponding normal DNA. Our analysis of somatic mutations revealed a higher frequency of tumor mutational burdens in the concomitant cases with ATC components compared with PTC components. The ATC components also exhibited a large number of private driver mutations and more genetic alterations in oncogenic driver genes such as TP53. Yet, the phylogenetic trees represent a low number of shared trunk mutations, specifically BRAF and MAP3K1 mutations, respectively. However, interestingly, we observed a similar mutation incidence in the metachronous case of FVPTC components between ATC components. It is worth noting that the number of high-confidence somatic mutations was higher in the FVPTC than in the ATC component.

研究分野：甲状腺がん

キーワード：未分化癌 乳頭癌 濾胞型乳頭癌 次世代シーケンス がんの進化

1. 研究開始当初の背景

甲状腺癌全悪性腫瘍の1%程度であるが、最も頻度が高い内分泌悪性腫瘍で、頭頸部癌の中では比較的に多い疾患である。甲状腺の濾胞上皮ないし前駆細胞由来とされ、組織病理学的には分化癌(乳頭癌、濾胞癌)、未分化癌に大きく分類される。甲状腺において最も発症頻度が高い乳頭癌の10年生存率は95%以上であり、甲状腺癌全体としては予後良好とされる。乳頭癌の中では濾胞型乳頭癌は比較的頻度の高い特殊型バリエーションであり、転移・浸潤などにより予後は通常型乳頭癌より不良とする報告、ほぼ同様とする報告いずれもある。しかし良好な予後に関わらず、腫瘍の脱分化プロセスを経て最終的には未分化癌に進行することがある。全甲状腺の1~2%程度である未分化癌は、急速に進行し、1年生存率わずか約16%程度と、予後は極めて不良である。

分化癌の一部では、摘出検体中に悪性度の高い未分化癌が混在しないし併存する例がある。逆に、未分化癌に摘出検体中に、乳頭癌などの分化癌成分が共存していることもしばしばある。分化癌は体細胞変異の頻度が低く、BRAF変異など受容体チロシンキナーゼ遺伝子融合の相互排他的活性化変異が存在する。一方、未分化癌では遺伝子不安定性が高い変異頻度と関連している。さらに、TP53変異の頻度や、MAPK及びPI3K-AKTシグナル伝達経路における遺伝子変異が未分化癌では分化癌に比べて高い。これらの事実を総合すると、分化癌はゲノムの蓄積を経て未分化癌に転化し、この経路は未分化がんの腫瘍発生様式と考えられている。

一方、臨床現場における未分化癌は(図1)乳頭癌で発症しその後発症した未分化癌(異時性;図1左側)、乳頭癌と同一腫瘍中に発見された未分化癌(同時性;図1中央)及び分化癌の既往が無く発生する未分化癌(de novo;図1右側)と、発見様式別に分類される。未分化癌は、世界的に組織試料特に凍結資料が乏しく、さらに、同一患者における分化癌と転化後の未分化癌の両方の凍結試料が保存されている例は極めて少ないことで、未分化転化メカニズムに関して研究が遅れている。

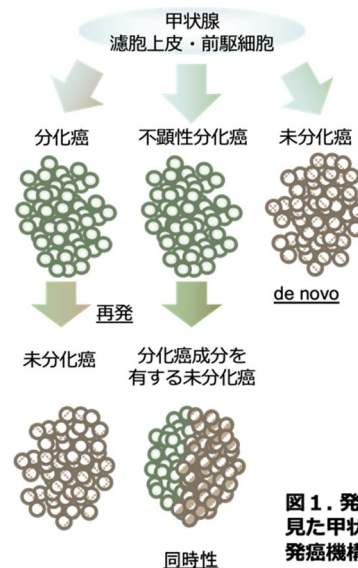


図1. 発現様式から見た甲状腺未分化癌発癌機構モデル

2. 研究の目的

本研究の目的は、世界的にも極めて貴重な同一症例の分化癌と未分化癌のペア凍結試料を用いてシーケンス解析を行うことで、得られた遺伝子変異プロファイルを比較し、分化癌から未分化癌への転化づける遺伝子群を同定することである。また、未分化転化メカニズムを明らかにすることを通じて、甲状腺癌患者のQOL向上に貢献すること、である。

3. 研究の方法

(1) 組織病理学的所見の確認と試料の収集

組織病理学、臨床データの再検討を行い、同一症例内甲状腺乳頭癌成分(PTC)と甲状腺未分化成分(ATC)が存在する甲状腺腫瘍の2例(Patient A、Patient B)同一症例における異時性甲状腺濾胞型乳頭癌(FVPTC)成分とATC成分が存在する甲状腺腫瘍の1例(Patient C)の凍結検体及びホルマリン固定パラフィン包埋組織からDNAを抽出あるいはマイクロダイセクションを用いてサンプリングを行う

(2) 次世代シーケンシング解析

対象症例

Patient Aにおける同時性乳頭癌と未分化癌成分を用いて全ゲノムシーケンシング

Patient Bにおける同時性乳頭癌と未分化癌成分を用いて全エクソームシーケンシング

Patient Cにおける異時性濾胞型乳頭癌と未分化癌成分を用いて全エクソームシーケンシング

調整したライブラリーをDNBSEQ-G400RS(MGI Tech)で、paired-endにかけて塩基配列を読み取

った。得られた Fastq ファイルより既存のパイプラインを用いて、データのクオリティーチェック後、ヒトゲノム hg19 を参照ヒトゲノムとしてマッピングを行い、その後、変異検出、コピー数多型解析、構造変異の検出などを行った。

また信頼度高い体細胞変異 high-confidence somatic mutation、コピー数、ploidy context、腫瘍純度など統合して、変異含有腫瘍細胞率(cancer cell fraction, CCF)を定量し、CCF に基づいて系統樹の作成などバイオインフォマティクス解析を行なった。

さらに免疫組織化学手法を用いて BRAF V600E 変異、デジタル PCR を用いて TERT プロモーター変異の検出を行った。

4 . 研究成果

(1) 甲状腺癌の 3 症例における腫瘍遺伝子変異量

Patient A と Patient B(同時性乳頭癌、未分化癌のペア検体)において、これまでの研究でも示されたように、どちらも未分化癌成分の腫瘍遺伝子変異量が乳頭癌成分と比べ、高いことを観察された。一方、Patient C(異時性濾胞型乳頭癌、未分化癌のペア検体)において、大きな違いはなかった。

(2) 体細胞変異及び系統樹の分析より遺伝子プロファイリング

Patient A と Patient B において、未分化成分は乳頭癌成分より多くの発がんドライバー因子を含めたプライベート遺伝子変異を認めた。さらに、乳頭癌成分と未分化癌成分では共通に BRAF および MAP3K1 変異、ATC 成分に TP53 変異が観察されたことから、共存する成分の早期分離と独立進化を示唆した。

一方、興味深いことに、Patient C において、濾胞型乳頭癌は未分化癌成分よりも多くの体細胞変異が観察された。また、PI3K シグナル伝達経路に BRAF など複数のがん遺伝子に関連する遺伝子の変異は PI3K 活性化と発がん未分化転化を引き起こす可能性があると考えられる。

私たちが次世代シーケンシングを用いて遺伝子のプロファイリングすることは、同一患者の異なる成分のクローン起源を示し、分化型がん及び未分化癌との関係について理解を深める可能性を与えられられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------