

令和 2 年 4 月 24 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15207

研究課題名（和文）TP53は条件付きがん遺伝子なのか？

研究課題名（英文）Functional significance of TP53 mutation in vivo

研究代表者

波多野 裕一郎（Hatano, Yuichiro）

岐阜大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10456543

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：生体内でのTP53遺伝子変異の機能的意義を解明するために、代表的なTP53遺伝子変異がんである高異型度漿液性癌の遺伝子および臨床病理学的解析を行った。がん細胞のp53蛋白の異常発現パターンはTP53遺伝子の変異パターンと密接に関係していたが、がん細胞に過剰発現している変異型p53の臨床病理学的意義は不明であった。機能獲得型p53変異体の機能的意義の解明は、TP53遺伝子変異ごとに詳細な解析が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高頻度に観察されるTP53遺伝子変異の機能的意義の解明は、がんの診断や治療の基盤となりうる。本研究では、TP53遺伝子の翻訳産物であるp53の異常発現パターンに注目して、TP53遺伝子変異が確定している高異型度漿液性癌の臨床病理学的特徴を解析した。変異型p53蛋白の発現と関連した特徴は同定できなかったが、TP53遺伝子変異パターンごとに症例を集積し、個別に解析することがTP53遺伝子変異の多様性の解明に繋がると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Here, to clarify the functional significance of TP53 mutation in in-vivo human carcinogenesis, genetic, clinical, and pathological analyses were performed in high-grade serous carcinoma of the female genital tract, which is a representative TP53-mutated cancer model. Although the aberrant patterns of p53 expression were closely associated with the mutation type of TP53, no clinical and pathological significance was observed in cancer cells over-expressing mutated p53. To elucidate the functional significance of the gain of function-type p53 mutant, further assessment based on each TP53 mutation type should be conducted.

研究分野：病理学

キーワード：がん関連遺伝子 TP53 高異型度漿液性癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん関連遺伝子 *TP53* は最も研究されているがん抑制遺伝子の一つで、様々ながん種で *TP53* 遺伝子変異が観察されている。*TP53* 遺伝子変異によって、p53 蛋白はがん化を抑制する機能を失うが、近年、変異型 p53 蛋白の中に腫瘍細胞の細胞増殖を促進する「機能獲得型 p53 変異体」が存在することが報告された。*TP53* 遺伝子の DNA 結合領域のミスセンス変異で、p53 蛋白の結合モチーフが変わり、転写誘導される遺伝子群に変化が起こることが腫瘍形成促進に繋がる可能性が示されたが、機能獲得型 p53 変異体が生体内でのがん化に与える影響を調べた研究は少ない。高異型度漿液性癌は最も頻度が高い卵巣癌で、大部分の症例は進行がんの状態で見られ、患者の生命予後は他の卵巣癌と比較して不良である。高異型度漿液性癌は悪性度の高い II 型腫瘍に分類され、*TP53* 遺伝子変異を非常に高頻度に有している。近年、高異型度漿液性癌患者の遠位卵管は *TP53* 遺伝子変異を有する異型上皮や上皮内癌を伴っていることが報告され、これらの腫瘍は発がん早期の *TP53* 遺伝子変異を背景とした卵管癌の可能性が示唆された。以上より、*TP53* 遺伝子変異が発がん早期でかつ中心である高異型度漿液性癌は、機能獲得型 p53 変異体の生体内解析モデルとして適していると考えられた。

2. 研究の目的

本研究は *TP53* 遺伝子の変異パターン・p53 蛋白の異常発現パターンが高異型度漿液性癌に与える臨床病理学的影響を解析し、*TP53* 遺伝子変異パターン次第でがん化を促進する「条件付き」がん遺伝子であるという仮説を検証することである。

3. 研究の方法

本研究の参加同意が得られた卵巣・卵管・腹膜原発漿液性癌手術症例を対象として、まず手術標本の FFPE ブロックから抽出した腫瘍 DNA を用いて、*TP53* 遺伝子をダイレクトシーケンシング法で解析した。遺伝子解析終了後、*TP53* 遺伝子変異パターンと p53 蛋白の発現パターンの関連性を調べた。その後、*TP53* 遺伝子変異が確定できた高異型度漿液性癌を p53 蛋白の過剰発現(びまん性陽性)パターンの有無で分類し、2 群間の臨床病理学的特徴を比較した。

4. 研究成果

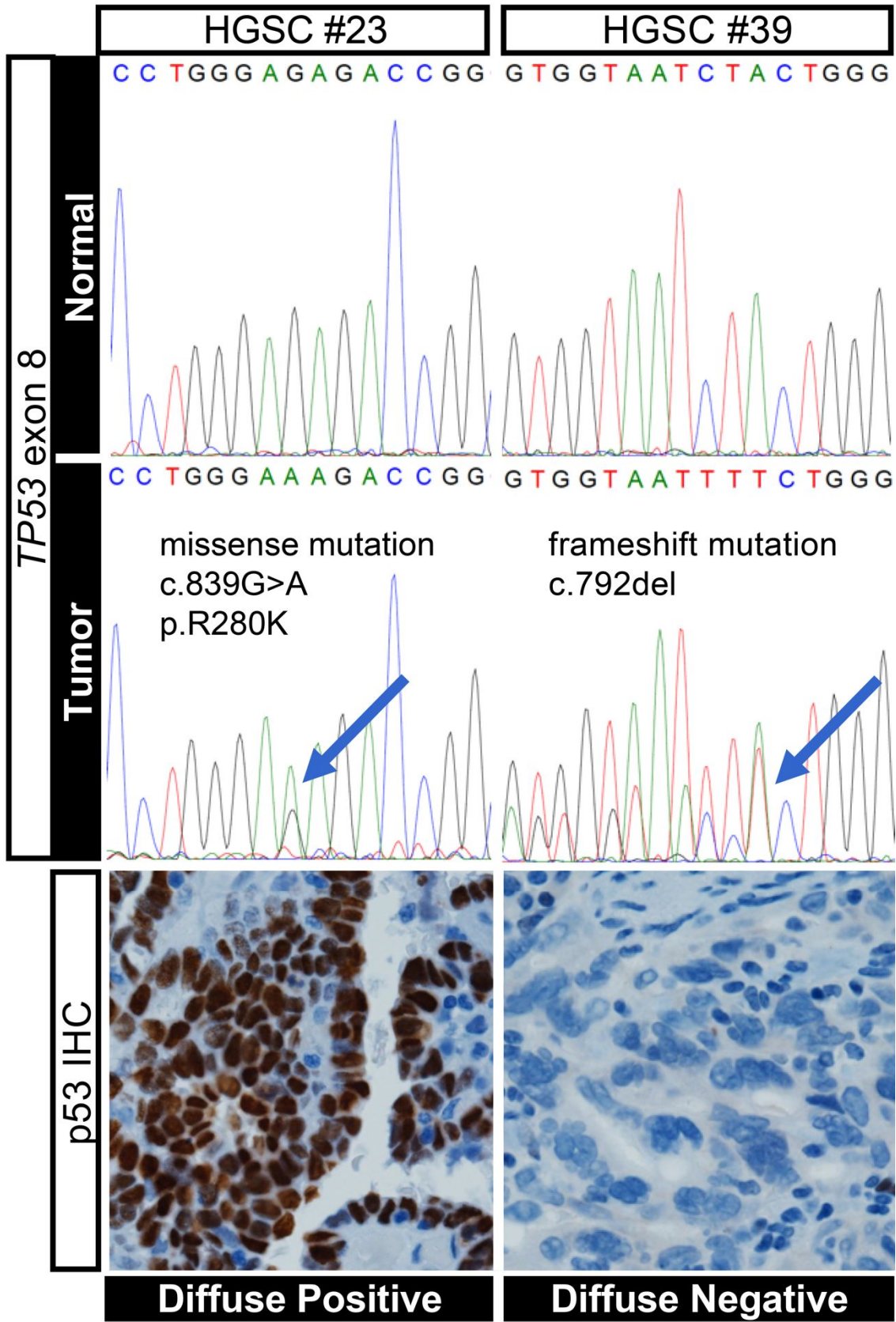
本研究の参加同意が得られた卵巣・卵管・腹膜原発漿液性癌手術症例 39 例のうち、4 例は免疫組織化学的に p53 反応性パターンを示し、*TP53* 遺伝子変異も確認できなかったため、低異型度漿液性癌の診断とし、解析対象から除外した。また、4 例は術前化学療法が奏功した高異型度漿液性癌で、p53 異常発現パターンを示す腫瘍細胞が非常に少数残存していたが、遺伝子変異解析に必要な腫瘍組織量が得られないと判断し、解析対象から除外した。

残りの 31 例のうち、*TP53* 遺伝子変異が確定できた高異型度漿液性癌は 23 例(74%)であった。免疫組織化学的に p53 びまん性陽性パターンを示した症例は 15 例、p53 びまん性陰性パターンを示した症例は 8 例で、全例で p53 異常発現パターンが確認された。*TP53* 遺伝子変異が確定できなかった高異型度漿液性癌 8 例も、6 例が p53 びまん性陽性パターン、2 例が p53 びまん性陰性パターンを示した。

TP53 遺伝子変異が確定できた高異型度漿液性癌で p53 びまん性陽性パターンを示した症例は *TP53* 遺伝子のミスセンス変異を有し、その大部分(14 例、93%)はエクソン 4~8 の DNA 結合領域に集中していた。先行研究の知見とほぼ一致した結果で、DNA 結合領域のわずかな構造変化に起こることで転写誘導される遺伝子が変化し、がん化抑制機能が喪失していると考えられた。それゆえ、p53 びまん性陽性パターンは、機能異常を有する変異型 p53 蛋白が本来のシグナル制御機構から逸脱したために過剰発現していると解釈できる一方で、新たな結合モチーフとの間に異常シグナルを活性化させている可能性も示唆された。一方、p53 びまん性陰性パターンを示した症例の大部分(6 例、75%)が *TP53* 遺伝子の欠失を有し、その他(2 例、25%)は *TP53* 遺伝子のナンセンス変異を示した。免疫組織化学的に p53 蛋白が確認されない理由として、p53 蛋白の構造変化が大きい場合、あるいは、蛋白発現自体がないため、抗 p53 抗体で認識されないと考えられた。

高異型度漿液性癌のうち、p53 びまん性陽性パターンを示す症例群に異常シグナルを活性化させる機能獲得型 p53 変異体が含まれていると仮定し、*TP53* 遺伝子変異が確定できた症例を p53 発現パターンで 2 群に分けて、臨床病理学的特徴を検討した。まず Kaplan-Meier 曲線を用いて全生存期間を解析したが、2 群間に統計学的有意差は確認されなかった。次に機能獲得型 p53 変異体の標的の一つ、MLL1 蛋白の発現状態を免疫組織化学的に解析したが、2 群間に統計学的有意差は確認されなかった。また、細胞増殖マーカーである Ki-67 蛋白の発現状態を免疫組織化学的に解析したが、2 群間に統計学的有意差は確認されなかった。以上の結果からは、変異型 p53 蛋白の過剰発現状態単独で生じる高異型度漿液性癌の臨床病理学的影響は小さいと考えられた。

しかしながら、高異型度漿液性癌を p53 蛋白発現パターンの 2 分類法で集約し、臨床病理学的特徴を解析した方法が、*TP53* 遺伝子変異が持つ個別の特徴や差異を均質化させてしまった可能性が否定できなかった。従って、機能獲得型 p53 変異体の機能的意義の解明は、*TP53* 遺伝子変異を有する腫瘍をより多数集積した上で、個別の *TP53* 遺伝子変異ごとに臨床病理学的特徴を解析する必要があると考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Hatano Y, Tamada M, Matsuo M, Hara A.	4. 巻 10
2. 論文標題 Molecular Trajectory of BRCA1 and BRCA2 Mutations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2020.00361	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hara A, Niwa M, Noguchi K, Kanayama T, Niwa A, Matsuo M, Hatano Y, Tomita H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Galectin-3 as a Next-Generation Biomarker for Detecting Early Stage of Various Diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10030389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hatano Y, Hatano K, Tamada M, Morishige KI, Tomita H, Yanai H, Hara A.	4. 巻 26
2. 論文標題 A Comprehensive Review of Ovarian Serous Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Advances In Anatomic Pathology	6. 最初と最後の頁 329 ~ 339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAP.0000000000000243	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kanayama T, Tomita H, Binh NH, Hatano Y, Aoki H, Okada H, Hirata A, Fujihara Y, Kunisada T, Hara A.	4. 巻 14
2. 論文標題 Characterization of a BAC transgenic mouse expressing Krt19-driven iCre recombinase in its digestive organs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0220818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0220818	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirata A, Hatano Y, Niwa M, Hara A, Tomita H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Heterogeneity in Colorectal Cancer Stem Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Prevention Research	6. 最初と最後の頁 413 ~ 420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1940-6207.CAPR-18-0482	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara A, Kanayama T, Noguchi K, Niwa A, Miyai M, Kawaguchi M, Ishida K, Hatano Y, Niwa M, Tomita H.	4. 巻 2019
2. 論文標題 Treatment Strategies Based on Histological Targets against Invasive and Resistant Glioblastoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 2964783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1155/2019/2964783	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirata A, Hatano Y, Niwa M, Hara A, Tomita H.	4. 巻 1139
2. 論文標題 Heterogeneity of Colon Cancer Stem Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 115 ~ 126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-14366-4_7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Noguchi K, Tomita H, Kanayama T, Niwa A, Hatano Y, Hoshi M, Sugie S, Okada H, Niwa M, Hara A.	4. 巻 14
2. 論文標題 Time-course analysis of cardiac and serum galectin-3 in viral myocarditis after an encephalomyocarditis virus inoculation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0210971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0210971	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hatano Y, Tamada M, Asano N, Hayasaki Y, Tomita H, Morishige KI, Hara A.	4. 巻 14
2. 論文標題 High-grade serous ovarian carcinoma with mucinous differentiation: report of a rare and unique case suggesting transition from the "SET" feature of high-grade serous carcinoma to the "STEM" feature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-019-0781-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawaguchi M, Kato H, Hatano Y, Mizuno N, Furui T, Morishige K, Hara A, Goshima S, Matsuo M.	4. 巻 73
2. 論文標題 Inchworm sign of endometrial cancer on diffusion-weighted MRI: radiology-pathology correlation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Radiology	6. 最初と最後の頁 907.e9 ~ 907.e14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crad.2018.05.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hatano Y, Fukuda S, Makino H, Tomita H, Morishige KI, Hara A.	4. 巻 13
2. 論文標題 High-grade serous carcinoma with discordant p53 signature: report of a case with new insight regarding high-grade serous carcinogenesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-018-0702-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iwashita T, Nakai Y, Mukai T, Togawa O, Matsubara S, Hatano Y, Hara A, Tanaka M, Shibahara J, Fukayama M, Isayama H, Yasuda I.	4. 巻 63
2. 論文標題 A 19-Gauge Histology Needle Versus a 19-Gauge Standard Needle in Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration for Solid Lesions: A Multicenter Randomized Comparison Study (GREATER Study)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 1043 ~ 1051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-018-4913-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hatano Y, Tamada M, Matsuo M, Tomita H, Asano N, Hara A.
2. 発表標題 Clinical and Pathological Features of Vitelline Vasculitis
3. 学会等名 The 109th USCAP annual meeting. Los Angeles, USA, 2020.3.2
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福田 真也、波多野 裕一郎、金山 知弘、丹羽 亜弓、野口 慶、富田 弘之、原 明
2. 発表標題 高異型度漿液性癌におけるp53蛋白発現とTP53遺伝子変異の関連性
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

〔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
---------------------------	-----------------------	----