

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03695

研究課題名（和文）免疫プロファイルに基づく肺がんのリスク層別化手法の構築

研究課題名（英文）Development of a risk stratification method for lung cancer based on immune profiles

研究代表者

白石 航也（Shiraishi, Kouya）

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・部門長

研究者番号：80609719

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究で実施した全ゲノム関連解析により、アジア人集団で既に報告されている10座位と欧米人集団で報告されている2座位が本研究で検証された。さらに、7つの新規遺伝子座（PTPRG、TERC、BTN2A1、HLA-C、HLA-DQB1、BAK1、ASB15）が本研究で確認された。BTNL2、BTN2A1遺伝子は T細胞の分化誘導に寄与することが知られており、BTNL2、BTN2A1といったブチロフェリン様遺伝子のリスクバリエーションが血球中の遺伝子発現量と負の相関を示した。以上の結果より、HLAアレル以外にも肺がんの発がんリスクに免疫回避機構が複数関与している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、肺がんの発症リスクには数十の感受性遺伝子座が寄与していることを明らかにし、その中にはMHC領域に多くの独立した因子を同定するに至った。これらの感受性遺伝子座を組み合わせたpolygenic risk scoreを算出することで、高リスク群を同定し、肺がんに対する高リスク群の層別化手法の構築に繋がられた。今後は臨床検体を用いてがん組織中の免疫プロファイルとの統合解析をさらに実施し、発症要因のメカニズムを明らかにする予定である。

研究成果の概要（英文）：Our investigation revealed significant associations between LADC risk and 19 genomic loci, characterized by highly noteworthy P-values ranging from  $6.9 \times 10^{-11}$  to  $4.8 \times 10^{-134}$ . The presence of 10 loci previously reported in the Asian population, as well as two loci reported in the Caucasian population, was validated in our study. Additionally, seven novel loci (PTPRG, TERC, BTN2A1, HLA-C, HLA-DQB1, BAK1, and ASB15) were identified through our investigation. Notably, the biological effects of other loci identified in the present study were also inferred through differential expression in normal lung or blood cells associated with the presence of LADC-risk-associated SNPs; SECISBP2L, BAK1, and BTN2A1 (which encodes a butyrophilin-like protein involved in the regulation of T-cell development and differentiation). Therefore, it is likely that the identified risk-associated loci exert an impact on LADC development and immune evasion.

研究分野：がんゲノム解析

キーワード：肺がん 生殖細胞系列変異 HLA多様性

### 1. 研究開始当初の背景

肺がんはがん関連死の中で最も高い致死率を示しており、肺腺がんはアジア人の祖先を持つ人々において2つの特徴的なサブタイプが示されている。まずアジアの肺腺がん患者は、ヨーロッパの肺腺がん患者 (~10%) と比較して、非喫煙者の割合が高い (~40%)。次にアジアの肺腺がん患者の約50%が上皮成長因子受容体 (EGFR) をコードする遺伝子に遺伝子変異を認めるが、この頻度は欧米の患者では約10%に過ぎない。したがって、喫煙の有無にかかわらず、欧米人の集団よりもアジア人の集団でより顕著な影響を及ぼす危険因子が、肺腺がんの発症に関与すると考えられます。現在までに、東アジアおよび欧米の患者さんの一塩基多型 (SNP) を調査するゲノムワイド関連研究 (GWAS) により、肺がんに対する感受性が高いことに関連する50以上の感受性遺伝子座 (HLA 領域を含む) が、潜在的危険因子として同定されています。これらの遺伝子座のうち、TERTおよびTP63を含むサブセットは、両方の集団において肺腺がんリスクとの関連を示していることから、白人集団とアジア人集団の間には顕著な遺伝的格差があるにもかかわらず、肺腺がんの感受性に寄与する共通の遺伝的要因が存在すると考えられています。しかし、テロメア関連遺伝子や HLA の多様性が肺腺がんの発症リスクに強く関連していることが示唆されるが、その意義は不明である。

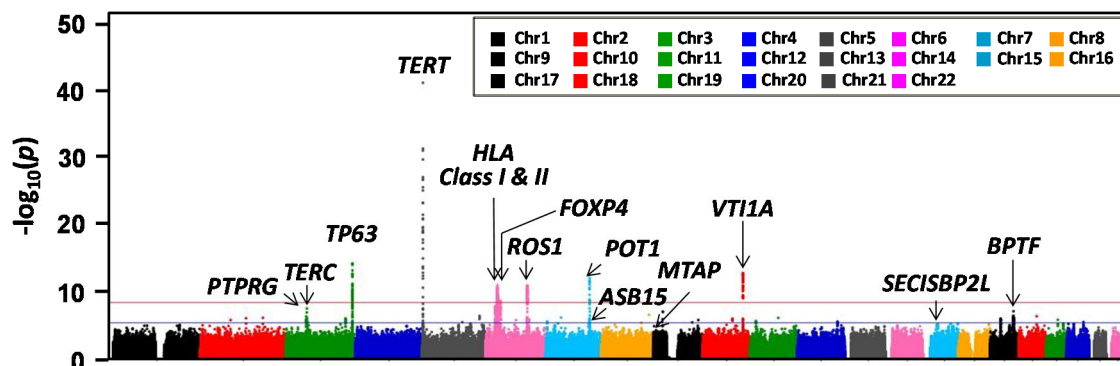
### 2. 研究の目的

本研究では肺腺がんに対するがんゲノム解析 (全ゲノム・エクソーム・RNA シークエンス) と遺伝子多型を用いた全ゲノム関連解析を実施することで、生殖細胞系列変異や体細胞異常の網羅的な意義付けや新たな発がん機構の解明を行う。また既取得がんゲノムデータを用いた解析で、複数症例で認められる共通ゲノム異常に着目した新たなドライバー変異の同定並びに治療標的の可能性を検討する。

### 3. 研究の方法

我々は、肺腺がんと診断された5,416人と29,696人の対照群からなる2つの新規のGWASを実施し、メタアナリシスを行った。その後、最も強く関連するSNPを、肺腺がん患者11,670人と対照者121,958人からなる独立したデータセットを用いて検証しました。その結果、肺腺がんのリスクと19のゲノム遺伝子座との間に有意な関連があることが明らかになったが、そのP値は $6.9 \times 10^{-11}$  から  $4.8 \times 10^{-134}$  であった。特に、これらの遺伝子座のうち4つは、テロメアの維持を制御する TERC、TERT (2つ独立した因子がある)、POT1 遺伝子が同定された。本研究を通して、アジア人集団で既に報告されている10座位 (TERT、TP63、BTNL2、HLA-DPB1、FOXP4、ROS1、POT1、VT11A、BPTF) と欧米人集団で報告されている2座位 (MTAP/CDNK2A、SECISBP2L) が本研究で検証された。さらに、7つの新規遺伝子座 (PTPRG、TERC、BTN2A1、HLA-C、HLA-DQB1、BAK1、ASB15) が本研究で確認されました (図1)。さらに17,086例の肺腺がん症例の内、EGFR 体細胞変異解析がされた症例に着目し、これら19個のSNPsと肺腺がんリスクとの関係性を評価した。興味深いことに、19個のSNPsのうち15個は、EGFR 体細胞変異を有する肺腺がん患者において、変異のない患者に比べて高いオッズ比を示した (図2a)。特に、EGFR 変異を有する肺腺がん症例と有さない肺腺がん症例を比べたところ、TERTとHLA-class IIのSNPsにおいて統計的に有意性にその頻度に差が認められ、我々が以前行った小規模GWASの知見が再現されています。

図1. 肺がんがんの全ゲノム関連解析結果



### 4. 研究成果

次にテロメア維持に関する3つの遺伝子 (TERT、TERC、POT1) のSNPsが、テロメアの生物学にどのように影響するかを検討しました。我々は肺腺がん患者964人から得た腫瘍および非腫瘍DNAサンプルの全ゲノムシーケンスを実施した。これまでの研究結果と同様に、女性は男性に比べて白血球のテロメア長 (LTL) が長く、加齢とともにLTLが減少することが示された。

特に、*TERT*、*TERC* 遺伝子の SNPs は、肺腺がんリスクと白血球テロメア長 (LTL) の延長と有意に相関を示しました ( $P < 0.01$ ; 図 2b)。また、*TERT* と *TERC* のリスクバリエーションの存在は、LTL の上昇を示唆する傾向があった ( $P < 0.01$ 、図 2c)。さらに、肺腺がんリスクと LTL の両方に過去に関連した 398 のバリエーション (GWAS カタログから編集、<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) と、我々のコホート内の LTL との関連性を調査しました。興味深いことに、テロメア維持に関与する 3 つの遺伝子、すなわち *TERF1*、*TINF2*、*OBFC1* の 4 つのリスクバリエーションは、LTL が長くなる傾向を示した ( $P < 0.01$ ; 図 2d)。生理学的には、テロメアの長さの調節は、*TERC*、*TERT*、*OBFC1* などのテロメラーゼ酵素と、*TRF1*、*RAP1*、*TERF1*、*POT1* などのシェルタリン蛋白質によって厳密に支配されており、これらは染色体末端の特定の DNA 配列に結合することが知られている。最近のメンデルランダム解析研究では、テロメアの長さが長いと肺腺がんの発症リスクが高くなるという正の相関が確立されています。この発見に基づき、本研究では、テロメア維持遺伝子に共通する SNPs がテロメアの伸長に寄与し、アジア人集団における肺腺がんへの感受性を高めることを明らかにしました。興味深いことに、これら SNPs は LTL との相関を示しましたが、肺腺がん細胞におけるテロメア長、構造変異数、腫瘍変異負荷との関連は示されなかった。これらの結果は、テロメア維持遺伝子の SNP がテロメアの伸長を促進し、肺上皮細胞の生存期間を延長していることを示唆している。これらの細胞の寿命が延びることで、腫瘍の発生や進行に伴う体細胞変化に影響を与えることなく、時間とともに悪性細胞へと変化する可能性が高まると考えられます。

また、本研究で同定された他の遺伝子座 (*SECISBP2L* (オーロラ A キナーゼの基質となる推定腫瘍抑制タンパク質をコード)、*BAK1* (プロアポトーシス BCL2 ファミリータンパク質をコード)、*BTN2A1* (T 細胞の発生と分化の制御に関わるブチロフィリン様タンパク質をコード)) についても、肺腺がんリスク関連 SNP の存在に伴う正常肺や血液細胞での発現の差が認められ、その生物学的効果が推察された。特に、*BTNL2*、*BTN2A1* 遺伝子は T 細胞の分化誘導に寄与することが知られており、*BTNL2*、*BTN2A1* といったブチロフェリン様遺伝子のリスクバリエーションが血球中の遺伝子発現量と負の相関を示した。恐らく、HLA アレル以外にも肺腺がんの発がんリスクに免疫回避機構が複数関与している可能性を示した。以上の結果から、同定されたリスク関連遺伝子座は、肺腺がんの発症や免疫回避に影響を及ぼしている可能性が高いと考えられる。今後、19 の肺腺がんリスク関連遺伝子座の異なる作用と累積作用がさらに解明されれば、この疾患の理解が深まり、治療や予防につながることを期待されます。

さらにアジア人非喫煙者肺腺がんを対象とした全ゲノム関連解析を実施し、28 個の感受性遺伝子の同定にも寄与していることを明らかにした (Shi, Shiraishi et al., Nat Commun 2023)。また免疫チェックポイント阻害剤の治療効果や有害事象との関連について検討するため、対象となる症例 426 例を抽出し、アジア人で多く認められる HLA-A \*24:02 アレルと治療効果との関連を検討したものの、統計学的に有意な差は認められなかった。最後に HLA に着目した体細胞変異との統合解析を実施した。アジア人で最も高頻度に認められ、かつ肺がんリスクと関連を示した HLA-A \*24:02 アレルに着目し、1,167 例の肺腺がん由来の全エクソンシーケンシングデータを用いた HLALOH 解析を実施し、各アレルの LOH (ヘテロ接合性喪失) の頻度を検討した。その結果、最も発がんリスクに関わる HLA-A \*24:02 アレルの LOH が最も頻度が低く、一方発がん抑制に関わる HLA アレルでは逆に LOH の頻度が高かった。さらに HLA-A \*24:02 アレルでは異物として認識するネオアンチゲン数が少なかった。以上の結果より、がん細胞はネオアンチゲンを認識しやすい HLA アレルを排除する傾向があるのに対して、一方でネオアンチゲンとして認識しにくい HLA アレルは見過ごすことで免疫回避機構を活性化することで、肺腺がんリスクに寄与する可能性を示した (図 3)。

図 3. HLA アレルと発がん機構のモデル図

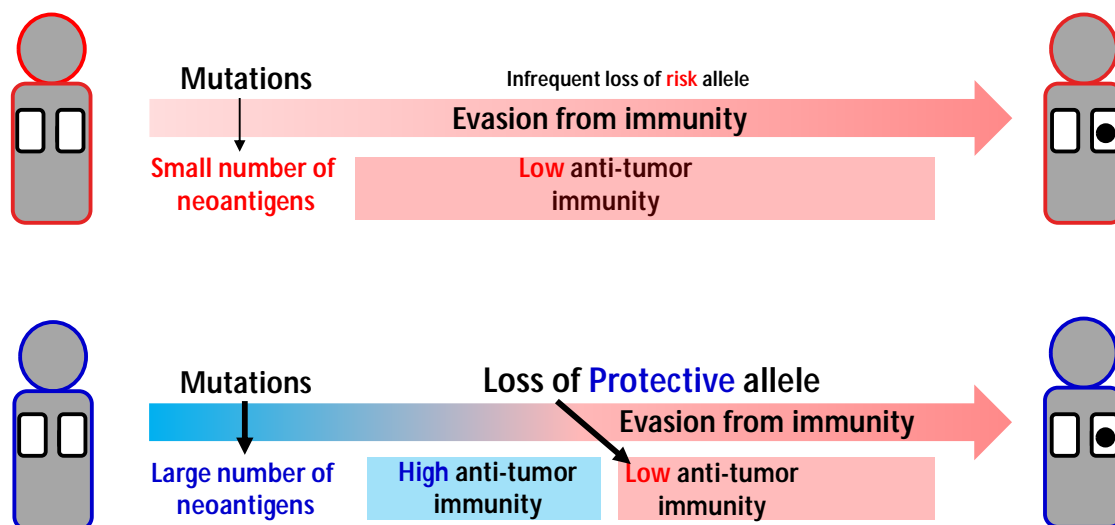
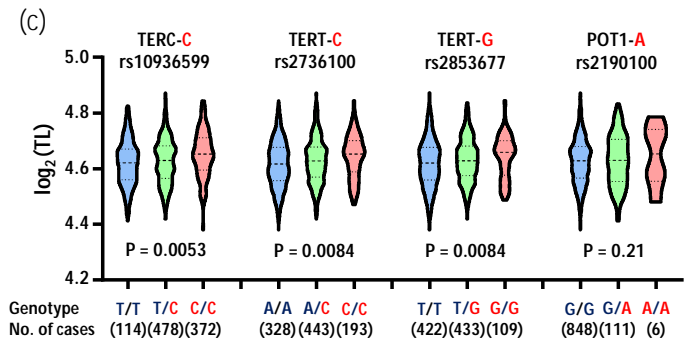
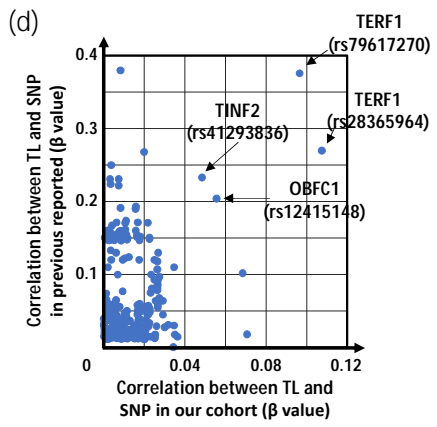
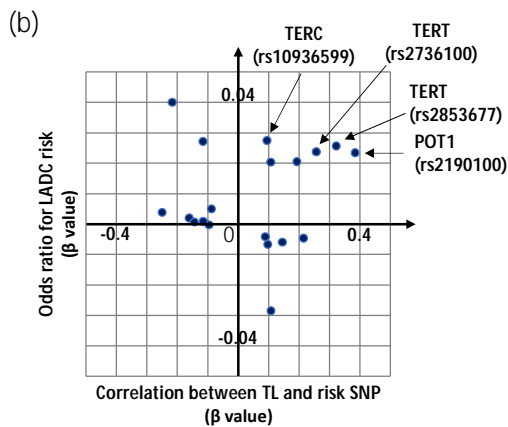
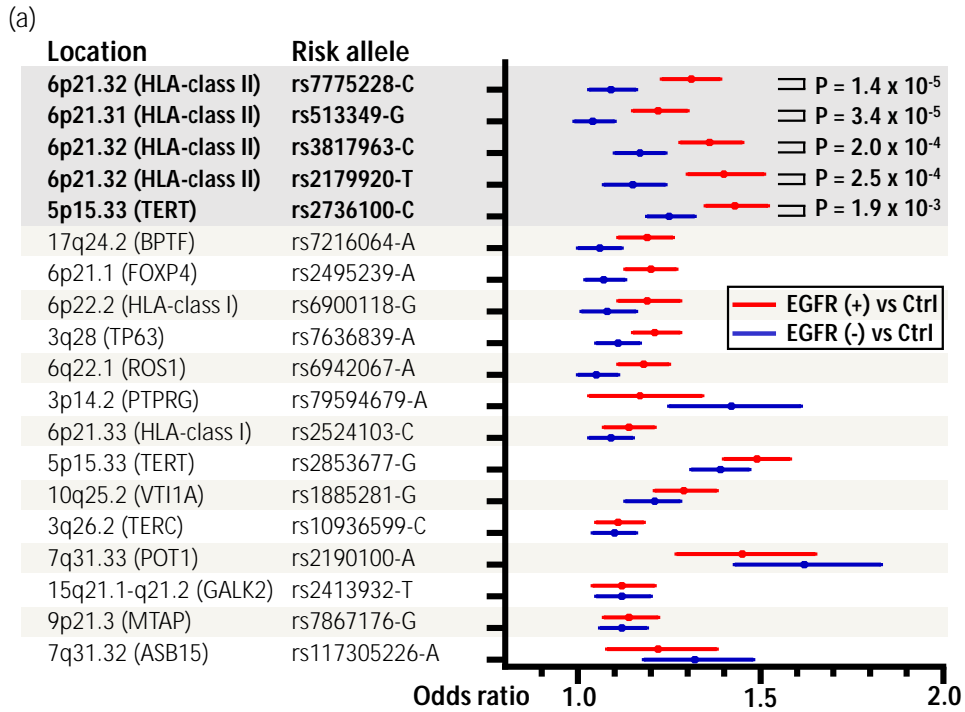


図2 (a) EGFR 体細胞変異の有無と SNPs との関連、(b) SNP と LTL との相関 (c) TERC、TERT、POT1 SNPs と LTL の相関 (d) 本コホート (X 軸) と GWAS カタログデータ (Y 軸) におけるテロメア維持に関わる遺伝子の SNP と LTL との相関



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shi Jianxin, Shiraishi Kouya, et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Genome-wide association study of lung adenocarcinoma in East Asia and comparison with a European population	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-38196-z	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 該当する
1. 著者名 Liu Geoffrey, Brenner Hermann, Chen Chu, Christiani David, Field John K., Hung Rayjean, Jie Zhang, Le Marchand Loic, Ryan Brid, Schabath Matthew B., Schwartz Ann G., Shete Sanjay, Shiraishi Kouya, Tardon Adonina, Teare M. Dawn, Yang Ping, Zhang Zuo-Feng, Xu Wei	4. 巻 154
2. 論文標題 A reply to "Lung cancer outcomes: Are BMI and race clinically relevant?"	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 225 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2021.02.019	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 該当する
1. 著者名 Shirasawa Masayuki, Yoshida Tatsuya, Takayanagi Daisuke, Shiraishi Kouya, Yagishita Shigehiro, Sekine Katsutoshi, Kanda Shintaro, Matsumoto Yuji, Masuda Ken, Shinno Yuki, Okuma Yusuke, Goto Yasushi, Horinouchi Hidehito, Hamada Akinobu, Kohno Takashi, Yamamoto Noboru, Watanabe Shun-ichi, Ohe Yuichiro, Motoi Noriko	4. 巻 22
2. 論文標題 Activity and Immune Correlates of Programmed Death-1 Blockade Therapy in Patients With Advanced Large Cell Neuroendocrine Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 282 ~ 291.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clcl.2021.02.003	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 Yotsukura Masaya, Asamura Hisao, Motoi Noriko, Kashima Jumpei, Yoshida Yukihiro, Nakagawa Kazuo, Shiraishi Kouya, Kohno Takashi, Yatabe Yasushi, Watanabe Shun-ichi	4. 巻 16
2. 論文標題 Long-Term Prognosis of Patients With Resected Adenocarcinoma In Situ and Minimally Invasive Adenocarcinoma of the Lung	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Oncology	6. 最初と最後の頁 1312 ~ 1320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2021.04.007	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 Shirasawa Masayuki, Yoshida Tatsuya, Shimoda Yukiko, Takayanagi Daisuke, Shiraishi Kouya, et al	4. 巻 16
2. 論文標題 Differential Immune-Related Microenvironment Determines Programmed Cell Death Protein-1/Programmed Death-Ligand 1 Blockade Efficacy in Patients With Advanced NSCLC	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Oncology	6. 最初と最後の頁 2078 ~ 2090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2021.07.027	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 Teishikata Takashi, Shiraishi Kouya, Shinno Yuki, Kobayashi Yoshihisa, Kashima Jumpei, Ishiyama Takako, Yoshida Tatsuya, Mori Taisuke, Yatabe Yasushi	4. 巻 16
2. 論文標題 An Alert to Possible False Positives With a Commercial Assay for MET Exon 14 Skipping	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Oncology	6. 最初と最後の頁 2133 ~ 2138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2021.07.028	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 Schmid Sabine, Jiang Mei, Brown M Catherine, Fares Aline, ..., Shiraishi Kouya, Hung Rayjean J, Xu Wei, Liu Geoffrey	4. 巻 31(3)
2. 論文標題 Accounting for EGFR mutations in epidemiological analyses of non-small cell lung cancers: Examples based on the International Lung Cancer Consortium data	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention	6. 最初と最後の頁 679-687
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1055-9965.EPI-21-0747	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 Kobayashi Kato Mayumi, Asami Yuka, Takayanagi Daisuke, Matsuda Maiko, Shimada Yoko, Hiranuma Kengo, Kuno Ikumi, Komatsu Masaaki, Hamamoto Ryuji, Matsumoto Koji, Ishikawa Mitsuya, Kohno Takashi, Kato Tomoyasu, Shiraishi Kouya, Yoshida Hiroshi	4. 巻 113(5)
2. 論文標題 Clinical impact of genetic alterations of CTNNB1 in patients with grade 3 endometrial endometrioid carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1712-1721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15328	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 Wong Jason Y.Y., Zhang Han, Hsiung Chao A., Shiraishi Kouya, et al	4. 巻 112
2. 論文標題 Tuberculosis infection and lung adenocarcinoma: Mendelian randomization and pathway analysis of genome-wide association study data from never-smoking Asian women	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genomics	6. 最初と最後の頁 1223 ~ 1232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygeno.2019.07.008	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 該当する

1. 著者名 Ishigaki Kazuyoshi, Akiyama Masato, Kanai Masahiro, Takahashi Atsushi, Kawakami Eiryō, Sugishita Hiroki, Sakaue Saori, Matoba Nana, Low Siew-Kee, Okada Yukinori, T....Kohno Takashi, Shiraishi Kouya, et al	4. 巻 52
2. 論文標題 Large-scale genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 669 ~ 679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-020-0640-3	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 Brhane Yonathan, Yang Ping, Christiani David C., Liu Geoffrey, McLaughlin John R., Brennan Paul, Shete Sanjay, Field John K., Tard?n Adonina, Kohno Takashi, Shiraishi Kouya, Matsuo Keitaro, Boss? Yohan, Amos Christopher I., Hung Rayjean J.	4. 巻 29
2. 論文標題 Genetic Determinants of Lung Cancer Prognosis in Never Smokers: A Pooled Analysis in the International Lung Cancer Consortium	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention	6. 最初と最後の頁 1983 ~ 1992
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1055-9965.EPI-20-0248	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 該当する

1. 著者名 Arakawa Ayumu, Ichikawa Hitoshi, Kubo Takashi, Motoi Noriko, Kumamoto Tadashi, Nakajima Miho, Yonemori Kan, Noguchi Emi, Sunami Kuniko, Shiraishi Kouya, et al	4. 巻 384
2. 論文標題 Vaginal Transmission of Cancer from Mothers with Cervical Cancer to Infants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New England Journal of Medicine	6. 最初と最後の頁 42 ~ 50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1056/NEJMoa2030391	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 Jiang Mei, Fares Aline F., Shepshelovich Daniel, Yang Ping, Christiani David, Zhang Jie, Shiraishi Kouya, et al	4. 巻 152
2. 論文標題 The relationship between body-mass index and overall survival in non-small cell lung cancer by sex, smoking status, and race: A pooled analysis of 20,937 International lung Cancer consortium (ILCCO) patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 58 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2020.11.029	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 該当する

〔学会発表〕 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 白石航也
2. 発表標題 Identification of genes associated with lung cancer risk in a Japanese population
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2020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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------