

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07692

研究課題名(和文) TP53 signatureの他がん腫への応用のための研究

研究課題名(英文) Research to apply the TP53 signature to cancer types other than breast cancer

研究代表者

高橋 信 (Takahashi, Shin)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：20431570

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)：9がん種1795例のTP53遺伝子変異および予後データを用いて、TP53 遺伝子変異と予後との関連性を検討したところ、TP53 遺伝子変異が予後におよぼす影響はがん種毎に異なることが示された。このため、21がん種8173例の遺伝子発現データを取得し、TP53 signatureがp53経路の遺伝子発現へ及ぼす影響を調べたところ、主に細胞周期関連遺伝子の発現プロファイルの違いから、癌は2群に分類された。73例の乳癌を対象として、TP53 sig.と遺伝子修復関連遺伝子および免疫関連遺伝子の発現レベルの関連性を検討した結果、多くの遺伝子でTP53遺伝子変異群と野生型群の間で有意な発現差を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、TP53遺伝子変異がp53経路の遺伝子発現に及ぼす影響はがん種によって異なることが示された。特に細胞周期関連遺伝子の発現レベルによって2群に分類可能であることが示されたことから、TP53遺伝子変異を有する癌に対する治療はこれらの2群でそれぞれ別の治療戦略が必要であることが示唆された。また、TP53遺伝子変異およびTP53 signatureは遺伝子修復関連遺伝子および免疫関連遺伝子の発現レベルと強く関連することが示されたことから、これらの経路をターゲットとした癌治療において、TP53遺伝子変異ステータスが治療効果と関連することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Using TP53 gene mutation and prognostic data from 1795 cases of 9 cancer types, we examined the association between TP53 gene mutation and prognosis, and found that the prognostic significance of TP53 gene mutation differed among cancer types. Therefore, gene expression data were obtained for 8173 cases of 21 cancer types, and the effects of TP53 signature on gene expression in the p53 pathway were examined. The cancers were classified into two groups based mainly on differences in the expression profiles of cell cycle-related genes. The association between TP53 sig and expression levels of gene repair-related and immune-related genes in 73 breast cancers showed significant expression differences between the TP53 mutant and wild-type groups for many genes.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：TP53 signature 遺伝子発現プロファイル 予後予測

1. 研究開始当初の背景

乳がんの独立予後因子としてがん抑制遺伝子 *TP53* 遺伝子の構造変異が知られている。申請者らは網羅的遺伝子発現解析によって、*TP53* 遺伝子の機能喪失型変異の有無を予測可能な遺伝子発現プロファイル (*TP53* signature) を創出し、複数の大規模コホートデータを用いた解析結果から *TP53* signature によって乳がんの予後や抗がん剤治療効果を高精度に予測する事が可能であることを報告した(Cancer Sci 99:324, 2008. J Clin Oncol 32 #11069, 2014)。また、6000 例のメタ解析の結果、*TP53* signature の予後および抗がん剤感受性の予測性能は、Oncotype DX[®]等の既存の多遺伝子アッセイ法に優ることが示された(BMC Cancer 15:179,2015)。以上のデータより、現在、国内臨床検査会社と共同で、*TP53* signature を体外診断用医薬品として開発を行っている。

TP53 signature はサンガー氏クエンシ法や次世代シーケンサーで診断した *TP53* 遺伝子変異の有無よりも予後や治療効果の予測性が高いことが報告されている(Cancer Lett 307:149,2011, Cancer Lett 342:19,2014.)。この理由として、*TP53* signature は *TP53* 遺伝子変異を検出するだけでなく、MDM2 の高発現など、p53 経路全体の機能異常を検出している可能性が示唆されている(Oncotarget 9:14193,2018)。

TP53 遺伝子はヒト悪性腫瘍において最も高頻度に変異が認められる遺伝子であり、頭頸部がんの 42.5%、食道癌の 41.2%、肺がんの 37.2%、泌尿器がんの 26.9%に *TP53* 遺伝子変異を認めると報告されている(IARC *TP53* database, R20, 2019)。このように *TP53* 遺伝子の異常および p53 経路の異常は様々ながんの発がんに共通する、非常に重要な分子機構であると言える。従って、*TP53* signature は乳がん以外の様々ながんにおいても予後や治療効果と関連する可能性が示唆される。

また、*TP53* signature は、Basal type 乳がんとの関連性が高く、BRCA 遺伝子と関連する DNA 二重鎖切断(Double Strand Break; DSB)修復関連機構と関連性が高いことが明らかとなっている。さらに、遺伝子および染色体不安定性と関連し、*TP53* signature mutant type(mt)の乳がんでは wild type(wt)の乳がんと比較して、遺伝子変異数や遺伝子コピー数の異常が多いこと、PD-L1 の発現レベルが高いことが示されており、免疫原性が高い腫瘍であることが示唆されている(Oncotarget 9:14193,2018)。

以上の背景より、

TP53 signature で診断される *TP53* 経路の異常の有無が、乳がん以外のがんにおいても

- ・ 臨床的意義(予後や治療効果の予測性)を有するか？
- ・ DSB 修復機構と関連性があるか？
- ・ 腫瘍内での免疫環境と関連するか？

という問いが生じる。

2. 研究の目的

(1) *TP53* signature を他のがん腫へ応用し、予後や治療効果の予測が可能かを検討する。

(2) *TP53* signature の遺伝子修復機構との関連性を検討し、PARP 阻害剤の治療効果と関連する可能性について検討を行う。

(3) *TP53* signature は腫瘍内の免疫環境と関連性を検討し、免疫チェックポイント阻害剤の治療効果と関連する可能性について検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 手術標本(ホルマリン固定パラフィン包埋組織)よりマクロダイセクションを行い、腫瘍細胞を収集する。RNA を抽出し、nCounter(ナノストリング社)を用いて、*TP53* signature 遺伝子セット(32 遺伝子)、DSB 修復関連遺伝子セット(40 遺伝子)、免疫関連遺伝子セット(32 遺伝子)の遺伝子発現プロファイルを得る。

(2) *TP53* signature ステータスの診断を行い、mt 群と wt 群間で全生存期間、無再発生存期間を比較する。再発例については *TP53* signature ステータスと治療効果との関連性を比較する。

(3) 各コホートで DSB 修復関連遺伝子の発現プロファイルを *TP53* signature ステータス間で比較する。また、これまで得られている乳がんにおける発現プロファイルと比較することにより、各がんにおける DSB 修復機構の特徴を検討する。

(4) 各コホートで免疫関連遺伝子の発現プロファイルを *TP53* signature ステータス間で比較する。3. と同様に、既存の乳がんデータとの比較を行い、腫瘍内の免疫環境の相違について検討する。

2.3.および 4. より得られた知見を TCGA や GEO データベースにて公開されているコホートデータを用いて、その再現性や臨床的意義について検証する。

4. 研究成果

TCGA より大腸腺癌、肺腺癌等の 9 がん種 1795 例について、*TP53* 遺伝子変異、遺伝子発現および予後データを取得し、*TP53* signature と予後との関連性を検討した。その結果、大腸腺癌、肺腺癌、副腎皮質癌では *TP53* signature と予後が有意に関連した一方、その他のがんでは *TP53* signature と予後との間に関連性を認めなかった。このため、各がん種毎に *TP53* 遺伝子変異の有無によって発現量に差のある遺伝子を抽出した結果、がん種間で共通して抽出される遺伝子はほとんどなかった。以上の結果

TP53 遺伝子変異の一部は、p53 の機能失活に加えて腫瘍細胞増殖や抗アポトーシス効果などの発がん作用を新たに獲得することが知られており、機能獲得型 (Gain-of-function; GOF) 変異と呼ばれ、それ以外の非 GOF 変異とは異なる生物学的特徴を持つと考えられている。p53 は転写活性を持つことから、この *TP53* 遺伝子変異サブタイプ (GOF 変異と非 GOF 変異) の違いが他の遺伝子発現に与える影響はがん種間で異なる可能性がある。このため、*TP53* 遺伝子変異を GOF 変異と非 GOF 変異に分類し、p53 経路の遺伝子発現に与える影響を階層的クラスタ解析にて検討した。その結果、全がん種において、GOF 変異と非 GOF 変異が互いに最近傍に配置された。この結果より、GOF 変異と非 GOF 変異の間では p53 経路の遺伝子発現に与える影響には差がないことが示された。

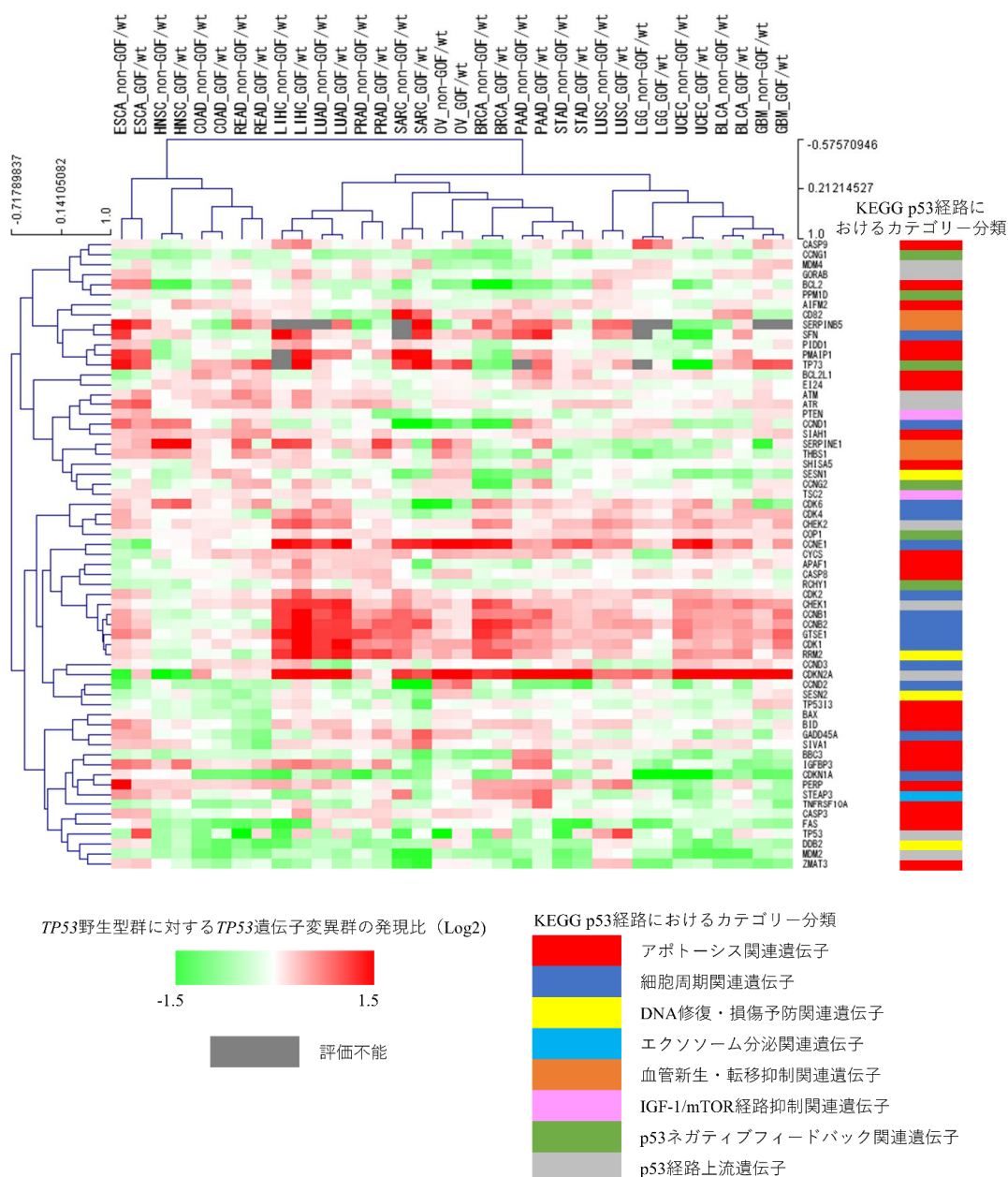


図 2
コホート B (17 がん種) における *TP53* 野生型群に対する機能獲得型 *TP53* 遺伝子変異群の遺伝子発現比と *TP53* 野生型群に対する非機能獲得型 *TP53* 遺伝子変異群の遺伝子発現比の両方を用いたがん種横断的な階層的クラスタ解析

73 例の乳癌を対象として、*TP53* signature と遺伝子修復関連遺伝子の発現レベルの関連性を検討した。野生型群と比較して、変異型群において、*BRCA2*、*CHEK1*、*RAD54L* の発現レベルが高い一方で、*ATF1*、*OLA1*、*ATM1* の発現レベルが低かった。また、免疫関連遺伝子に関しては、野生型群と比較して、変異型群において、*CTLA4*、*CXCL8*、*CXCL9*、*CXCL10*、*FOXP3*、*GZMB*、*IDO1*、*IGKC*、*IL6*、*PD-L2* の発現レベルが高かった一方で、発現レベルの低い遺伝子はなかった。以上より、*TP53* signature と遺伝子修復機構および免疫関連遺伝子の発現レベルが強く関連することが

示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takahashi S, Fukui T, Nomizu T, Kakugawa Y, Fujishima F, Ishida T, Ohuchi N, Ishioka C.	4. 巻 28(6)
2. 論文標題 TP53 signature diagnostic system using multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction system enables prediction of prognosis of breast cancer patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Breast Cancer	6. 最初と最後の頁 1225-1234
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12282-021-01250-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 -

1. 著者名 Sasaki K, Takahashi S, Ouchi K, Otsuki Y, Wakayama S, Ishioka C.	4. 巻 24
2. 論文標題 Different impacts of TP53 mutations on cell cycle-related gene expression among cancer types	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4868
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-32092-8.	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 -

〔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 高橋信、佐藤信昭、金子耕司、増田慎三、岩田広治、服部正也、坂東裕子、山内英子、藤島史喜、齋藤辰朗、袁媛、高橋史朗、山口拓洋、石岡千加史
2. 発表標題 TP53 signatureによる乳がんの治療効果および予後予測性に関する検証試験
3. 学会等名 第29回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2021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
---------	---------