

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：82606

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19492

研究課題名（和文）肺がんリスクを規定するTCRレパトアプロファイルの同定

研究課題名（英文）Identification of T cell receptor repertoire profiling that define lung cancer risk

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） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：獲得免疫系の主役をなす細胞性免疫に関わるT細胞は、抗原特異的な受容体としてT細胞受容体（T-cell receptor：TCR）を発現している。本研究では、特にHLAリスクアレルに対するT細胞受容体の多様性（TCRレパトアプロファイル）との相関を検討し、肺がんリスクとの関連を検討した。まず既取得肺腺がん組織検体由来RNAシーケンスデータ約2,500例を用いて、MIXCRを用いて検討を行った。まずRNAシーケンスの解析手法による影響がないかを検討したところ、TCRレパトアを検出することができた。HLAアレルとTCRレパトアの多様性等に着目した統合解析を行い、現在その成果を取りまとめている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、様々な遺伝的要因や環境要因等により免疫の活性化能に影響を与え、発がんリスクに寄与している可能性が示された。現在TCRレパトアの多様性は、免疫チェックポイント阻害剤など、一部の薬剤の治療効果や副作用等に影響を与えていることが報告されていることから、今後も重要な研究テーマであると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We identified 19 LADC susceptibility loci, including several variants in the major histocompatibility complex region. The class I HLA-A*24:02 allele was identified as a risk factor for LADC and as conferring attenuated immunity. HLA-A*24:02 binds fewer somatic mutation-derived neoantigens in tumour cells than other HLA-A proteins, and loss of this allele occurs infrequently.

Next, we examined the correlation between T-cell receptor diversity (TCR repertoire profile) and lung cancer risk, especially for HLA risk alleles. Using approximately 2,500 RNA sequencing data obtained from previously acquired lung adenocarcinoma tissue specimens, we conducted the study using the MIXCR. We examined whether the RNA sequencing methods had any effect on the TCR repertoire profile, and we were able to detect the TCR repertoire profile, and we performed an integrated analysis focusing on the diversity of HLA alleles and TCR repertoire profile. The results are now being compiled.

研究分野：がんゲノム解析

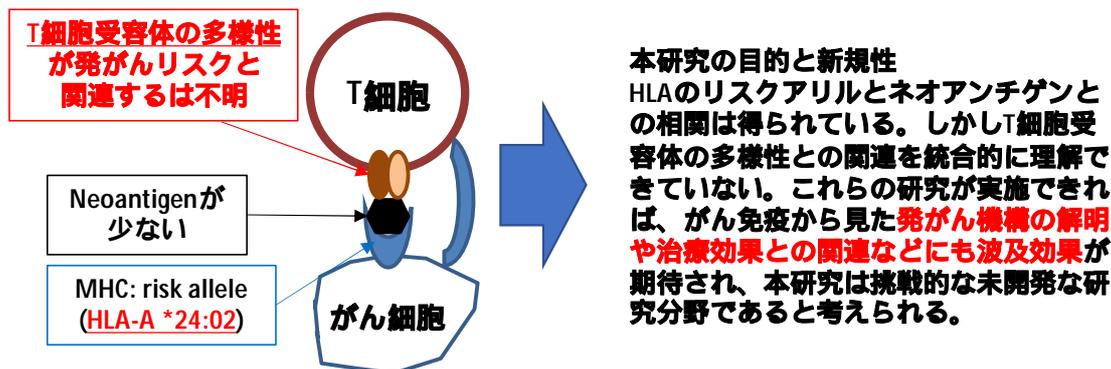
キーワード：肺がん 生殖細胞系列変異 TCRレパトア解析

1. 研究開始当初の背景

がん細胞がもつ宿主免疫からの回避を阻害する免疫チェックポイント阻害剤は、一部の症例に対して進行期における長期の延命を可能にした。この現象は、宿主免疫自体が正常に機能すれば進行期のがんの進展を抑えられることを示している。一方がん細胞は、HLA 領域の欠失、遺伝子変異等の蓄積や免疫応答に関わる遺伝子群の発現異常といった複合的な遺伝子異常の蓄積により、がん細胞は宿主免疫から回避している。免疫の活性化に必要な MHC の多様性とそれを認識できるネオアンチゲン数との相関が得られていることから、ネオアンチゲンと MHC との複合体を認識するために必要な T 細胞受容体の多様性 (TCR レパトアプロファイル) も発がんリスクに重要な役割を果たしているのではないかと考え、本研究の着想に至った。

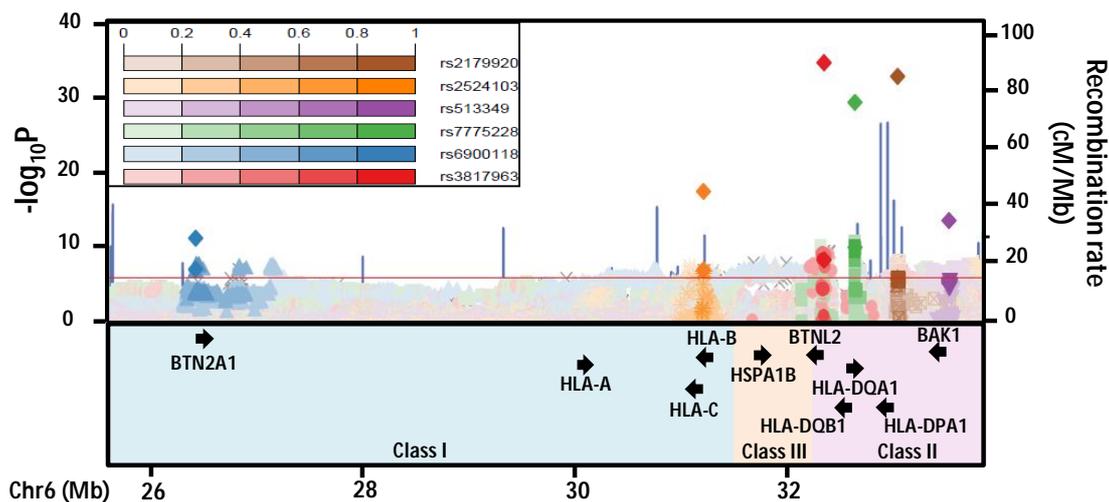
2. 研究の目的

本研究の目的は、肺がん症例全例を対象に既取得 RNA シークエンスデータを用いた TCR レパトア解析を実施し、発がんリスク・予後・化学療法応答性それぞれに起因するプロファイルを明らかにする。



3. 研究の方法

非喫煙のアジアの肺がん症例は EGFR 体細胞変異を有する 경우가多く、これらの腫瘍はしばしば非炎症性の特徴を示すことが知られています。研究代表者は、5,416 人の肺がん症例と 29,696 人の健常群からなる 2 つの独立した全ゲノム関連解析のメタ解析と、11,670 人の肺がん症例と 121,958 人の健常群からなる独立した検証研究を実施し、19 か所の肺がんの発症リスク因子 (HLA (Human Leukocyte Antigen = ヒト白血球抗原) 領域を含む 5 つの独立した因子: 下図) を同定しました。そこで HLA に着目したゲノム解析を実施するため、SNP チップデータを用いた HLA 型の推定を行い、症例対照研究を実施したところ、クラス I の HLA-A*24:02 対立遺伝子は肺がんのリスク因子であることが分かりました。さらに 1,176 例の腫瘍の全エクソン/トランスクリプトームデータを用いて、下記の解析を実施しました。

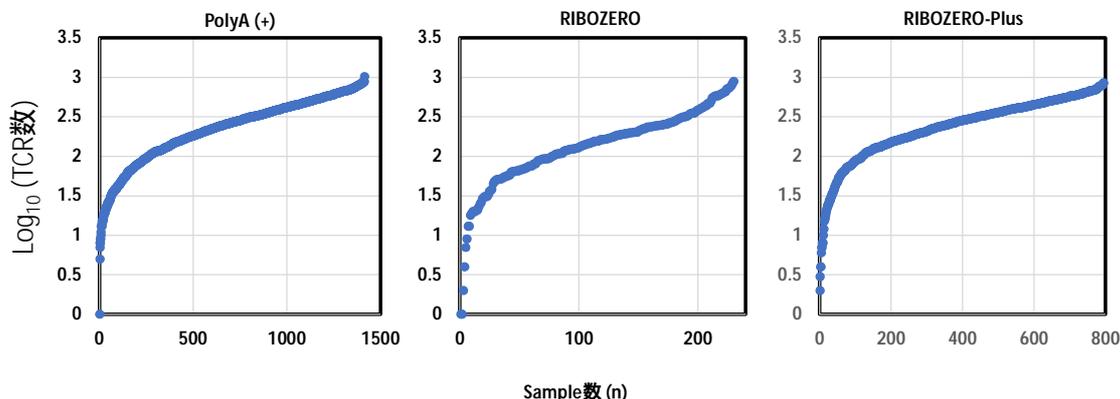
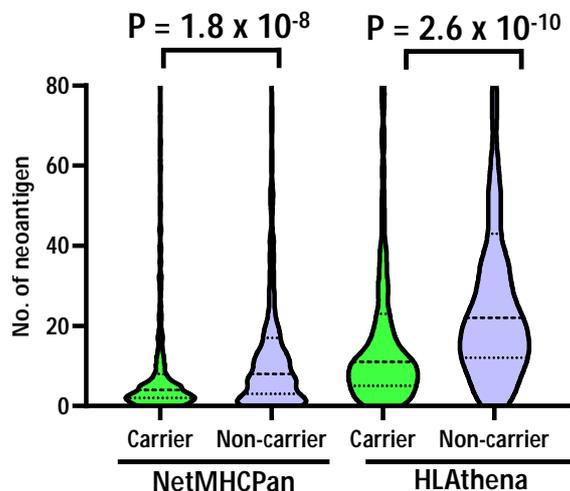


全エクソンシーケンスデータを用いて各症例の HLA アレルを推定したところ、HLA-A*24:02 は、他の HLA-A タンパク質よりも腫瘍細胞由来の体細胞変異をネオアンチゲンとして認識する割合が低いことが分かった (右図)。HLA クラス II の HLA-DPB1 57Asp をコードするリスクアレルは、EGFR 変異肺がんリスクと関連するとともに、免疫細胞の低下に関わることが分かった。本研究を通して、HLA クラス I およびクラス II の多様性が肺がんの発症リスクおよびがん組

織中の免疫原性の特徴を明らかにした。

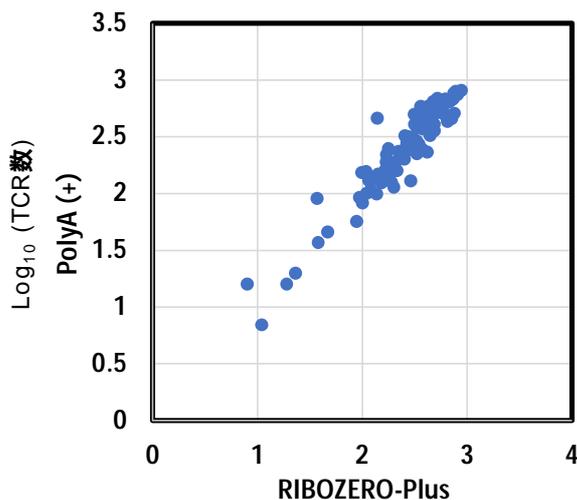
4. 研究成果

獲得免疫系の主役をなす細胞性免疫に関わるT細胞は、抗原特異的な受容体としてT細胞受容体(T-cell receptor: TCR)を発現している。TCRの抗原結合部位は、遺伝子再構成により決定され、ヒトの体内では膨大な多様性を獲得している。本研究では、特にHLAリスクアレルに対するT細胞受容体の多様性(TCRレパトアプロファイル)との相関を検討し、肺癌リスクとの関連を検討した。既取得肺癌がん組織検体由来RNAシーケンスデータ約2,500例を用いて、mixcr(Dmitriy A et al., Nature Biotechnology 2017)プログラムを用いて検討を行った。まずRNAシーケンスの解析手法(PolyA、RIBOZERO、RIBOZERO-Plus、SMART-seq)による影響がないかを検討した。その結果、SMART-seqではTCRレパトアを検出することができなかった。しかし他のプラットフォームでは、down samplingにより正規化した数値を算出することができ、レパトアの多様性を検出することができた(下図)。



さらに同一症例に対して実施した105例のPolyA、RIBOZERO-Plusに対して、mixcrによるTCRレパトア解析を実施し、down samplingにより正規化した数値を用いた相関を検討した。その結果、対数値として正規分布に近い形で評価することで、相関係数の高い結果を得ることができた。プラットフォーム間での差異について、今後慎重に対応する予定である(右図)。

全エクソンシーケンスデータ1162例については、HLAHDプログラムを用いてHLA型を推定した。最も解析数が多いPolyAに着目して、HLAアレル、各HLAアレルに対するLOH(ヘテロ接合性喪失)の有無、臨床因子(性別、年齢、組織型、喫煙歴)などとの相関性の有無を検討したところ、性別、年齢においてばらつきが認められた。その傾向はプラットフォームが異なっても、認められた。現在交絡因子になりうる因子に着目し、HLAのリスクアレルとの相関性の有無については、多変量解析を用いた評価を進めており、詳細については現在論文投稿準備中である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Schmid Sabine, Jiang Mei, Brown M Catherine, Fares Aline, ..., Shiraishi Kouya, Hung Rayjean J, Xu Wei, Liu Geoffrey	4. 巻 .
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 .
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 該当する
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 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 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 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

〔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
---------	---------