

TP53 codon72遺伝子多型は筋層非浸潤性膀胱癌においてFGFR3、RASの体細胞変異に關与する

著者	河原 貴史
内容記述	この博士論文は内容の要約のみの公開（または一部非公開）になっています
発行年	2019
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2018
報告番号	12102甲第9184号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00156471

論 文 概 要

○ 論 文 題 目 : *TP53* codon72 遺伝子多型は筋層非浸潤性膀胱癌において
FGFR3、*RAS* の体細胞変異に關与する

○ 指 導 教 員

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 西山 博之 教授

(所 属) 筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻

(氏 名) 河原 貴史

目的：膀胱癌の発癌過程には少なくとも2つの経路があることが報告されている。1つは過形成から乳頭状腫瘍を生じる主に筋層非浸潤性膀胱癌が生じる経路で *FGFR3* と *RAS* 遺伝子の活性化が関与していると考えられている。またもう一つは異形成から上皮内癌が生じ筋層浸潤性膀胱癌を生じる経路で主に *TP53* や *RB* 遺伝子の不活性化が関与していると考えられている。しかし2つの経路のうちどちらの経路が選択され、また特定の体細胞変異が獲得される機序は明らかとなっていない。最近肺癌やメラノーマなどで特定の遺伝子多型と特定の体細胞変異との関連が報告されており、遺伝子多型が体細胞変異に影響を与えることが示唆されている。*TP53* は膀胱癌で中心的な役割を果たしているが *TP53* には幾つかの遺伝子多型が知られている。その中で codon72 はアミノ酸変化を伴う遺伝子多型として知られ、機能解析や様々な癌種で発癌や予後などよく研究されている遺伝子多型である。膀胱癌においても発症のリスク因子となっている可能性や、予後との関連が報告されている。今回我々は *TP53* codon72 と膀胱癌の予後との関連が遺伝子多型による体細胞変異の差異にあるのではないかと仮説を立て、*TP53* codon72 遺伝子多型と体細胞変異との間に関連がないか検討を行った。

対象と方法：103人の膀胱尿路上皮癌患者を対象とした。患者背景は筋層非浸潤性膀胱癌が59人、筋層浸潤性膀胱癌が44人であった。*TP53* codon72 遺伝子多型は患者の血液より抽出したDNAを用いて Taqman genotyping assay で解析した。また体細胞変異は腫瘍組織のホルマリン包埋切片よりDNAを抽出し、50個の癌関連遺伝子を解析する Ion AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 を用い、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンスにて解析した。得られた結果から遺伝子多型と体細胞変異との間に相関がないか検討した。統計解析は Stat View ver. 5.0 を用い、統計学的有意差は $p < 0.05$ を有意と判定した。

結果：*TP53* codon72 のアレル頻度はそれぞれ Arg/Arg は 37% (38/103), Arg/Pro は 42% (43/103)、Pro/Pro は 21% (22/103) であった。また体細胞変異は 50 遺伝子のうち 11 遺伝子が陽性で、変異頻度の高いものから *FGFR3* (33%), *TP53* (29%), *PIK3CA* (25%), *HRAS* (13%), *KRAS* (11%), *AKT1* (3%), *CTNNB1* (3%), *ATM* (1%), *BRAF* (1%), *NRAS* (1%), *RBI* (1%) であった。変異頻度の高い *FGFR3*, *TP53*, *PIK3CA*, *RAS* (*KRAS*, *HRAS*, *NRAS*) に着目し以後の解析を行った。*FGFR3* 変異は Arg/Arg, Arg/Pro アレルをもつ患者に多く *PIK3CA* 変異は Arg/Arg アレルをもつ患者に多かった。それぞれ統計学的有意差が見られた ($p < 0.01$, $p = 0.04$)。筋

層非浸潤性膀胱癌では Arg/Arg, Arg/Pro アレルをもつ患者で *FGFR3* 変異が多く、Pro/Pro アレルをもつ患者では *FGFR3* 変異は少なかった (51%:10%, $p=0.02$)。一方、Pro/Pro アレルをもつ患者では *RAS* 変異が多かった (70%:27%, $p<0.01$)。筋層浸潤性膀胱癌では *TP53* codon72 アレルと体細胞変異の頻度間に有意差は見られなかった。*TP53* codon72 以外に体細胞変異に影響している因子がないか喫煙歴に着目して検討した。喫煙歴の有無と *RAS* 変異の頻度間に有意差を認めた ($p=0.01$)。*RAS* 変異の頻度は喫煙者で 32%、非喫煙者で 8.8%と喫煙者に多く、喫煙歴により *RAS* 変異が増加する可能性が示唆された。*FGFR3*、*PIK3CA*、*TP53* 変異と喫煙歴との間には有意差を認めなかった。筋層非浸潤性膀胱癌において *TP53* codon72 の Arg アレルの有無と *FGFR3* および *RAS* 変異が、また喫煙歴と *RAS* 変異の頻度が関連していたため、*TP53* codon72 の Arg アレルの有無を喫煙歴の有無で分け *FGFR3* および *RAS* 変異の頻度を比較した。Arg アレルをもつ患者で非喫煙者は *RAS* の変異の頻度が少なく (6.7%)、喫煙者では *RAS* 変異が多かった (34%) が、*FGFR3* 変異は喫煙歴の有無で差を認めなかった (喫煙者;45%, 非喫煙者;60%)。一方、Pro/Pro アレルをもつ患者は喫煙歴に関かわらず *FGFR3* および *RAS* 変異の頻度は変わらなかった (喫煙者;71%, 非喫煙者;67%)。

考察：*RAS* 遺伝子は *FGFR3* シグナルの下流に位置しており、膀胱癌において *RAS* 変異と *FGFR3* 変異は相互排他的であるとされている。しかし、*RAS* および *FGFR3* 変異のいずれの変異が獲得されるのか機序は分かっていなかった。我々の検討でも *FGFR3* 変異と *RAS* 変異は互いに重複例はなかった。筋層非浸潤性膀胱癌において、*TP53* codon72 の Arg/Arg, Arg/Pro アレルをもつ患者には *FGFR3* 変異が多く、Pro/Pro アレルをもつ患者には *RAS* 変異が多かった。この結果は *TP53* codon72 が筋層非浸潤性膀胱癌における *FGFR3* および *RAS* の変異に影響を与えていると考えられた。喫煙と体細胞変異との関連については非小細胞肺癌において喫煙者に *KRAS* 変異陽性の腫瘍が多いことまた非喫煙女性、なかでもアジア人に *EGFR* 変異陽性の腫瘍が多いことが知られている。膀胱癌では同様の報告は見られなかったが、膀胱癌においても遺伝的背景や喫煙歴が体細胞変異に影響を与えると考えられた。

結論：筋層非浸潤性膀胱癌において、*TP53* codon72 遺伝子多型が *FGFR3* および *RAS* 遺伝子の体細胞変異と関連することを見出した。この知見は遺伝的背景が体細胞変異に影響を与えることを示唆するものであり膀胱癌の解明の一助となると考えられる。