

審査の結果の要旨

氏名 西島 明

本研究では、卵巣明細胞癌の統合的解析によって、遺伝子変異プロファイル、変異シグネチャー、DNAメチル化プロファイル、遺伝子発現のそれぞれの関連性を明らかにするとともに、卵巣明細胞癌の細胞起源についての新たな知見を得ることを目的とし、下記の結果を得ている。

1) 卵巣明細胞癌の遺伝子変異の概要

全体として19,582の突然変異が同定された。78症例中2症例はミスマッチ修復(MMR)機能喪失変異および、高頻度遺伝子変異を認めた。1例は*MSH6*の生殖細胞系列変異と、変異アレルの片親性ダイソミーを認めた。もう1例は*MLH1*のプロモーター領域にメチル化を示した。したがって、卵巣明細胞癌ではMMR関連異常の割合は2.6%であった。染色体コピー数異常は、全エクソーム解析データに基づいて評価した。コピー数増加は染色体8q24.21(*c-MYC*遺伝子座)に55%、3q26.32(*PIK3CA*遺伝子座)に28%と高頻度に認めた。また、染色体1p36.1-p35(*ARID1A*遺伝子の座位)に9.0%のアレル欠失が検出された。

2) パスウェイ関連の遺伝子変異

全エクソン解析で有意に変異を来たしていた遺伝子は41個であった。上位4例は*ARID1A*(n = 43, 55%)、*PIK3CA*(n = 42, 54%)、*KRAS*(n = 10, 13%)、*TP53*(n = 6, 7.7%)であった。

*ARID1A*変異に加え、*SWI/SNF*複合体遺伝子の体細胞変異が13例(17%)で同定された。その他、*SMARCA4*に7.7%、*ARID1B*に6.4%、*SMARCA1*、*SMARCA2*、*SMARCC1*を1.3%に同定した。

*PI3K/AKT/mTOR*経路における体細胞変異は、*PIK3CA*遺伝子において高頻度に同定された。他の遺伝子変異の比率は*PTEN*、*AKT1*、*AKT2*、*mTOR*および*TSC1*でそれぞれ1.3%であった。

*RTK/RAS*経路遺伝子において、*KRAS*変異12.8%の他、*FGFR2*:5.1%、*ERBB3*:5.1%、*CTNNB1*:5.1%、*NRAS*:1.3%、*MAP2K1*:1.3%の変異を認めた。

*ARID1A/PIK3CA*ダブルネガティブ遺伝子型は、進行期およびリンパ節転移(それぞれp = 0.040および0.0012)および予後不良と有意に関連していた。*PIK3CA*変異群では、有意に全生存率が延長していた(p = 0.007)。

3) 変異シグネチャー

変異シグネチャーをNMFアルゴリズムにより分析した。最初に、MMR遺伝子異常を呈

し、遺伝子変異総数が多かった 2 症例が、MMR 欠損シグネチャーと関連することを確認した。卵巣明細胞癌と卵巣高異型度漿液性癌の間では、明らかにシグネチャーの構成が異なっており、卵巣明細胞癌では MMR, AGE, APOBEC シグネチャーが優位であり、卵巣高異型度漿液性癌では BRCA シグネチャーが最も優位であった。

MMR シグネチャーは AGE シグネチャーと類似し分離困難であるため、2 症例を除外し、残りの 76 例で変異シグネチャーについて再解析を行った。卵巣明細胞癌 76 例において、4 つの代表的なシグネチャーが見つかった。4 種のシグネチャーのうち 3 種 (加齢、BRCA、および APOBEC) は、現在の COSMIC のシグネチャーとよく合致することが確認された。もう一つのシグネチャーはいずれの既報のものとも一致しなかった。AGE シグネチャー優勢群は卵巣明細胞癌 51 例 (67%) で最も多く、他に APOBEC シグネチャー優勢群 14 例 (18%)、BRCA シグネチャー優勢群 4 例 (5.2%) であった。

#### 4) DNA メチル化解析

我々は 270 例の卵巣癌データと 26 の正常組織 (卵管采上皮、卵巣表層上皮、骨盤腹膜) と比較して、NMF アルゴリズムを用いて、クラスタリング解析を行った。分類された 3 群は 3 種の正常組織のメチル化プロファイルとそれぞれ対応することを確認した。卵管採様クラスターには、高異型度卵巣漿液性癌の 157 例中 139 例 (89%) が含まれていたが、明細胞癌では 94 例中 5 例 (5.3%) のみ含まれていた ( $p < 0.001$ )。

対照的に、骨盤腹膜様クラスターには、卵巣明細胞癌の 81% (94 例中 76 例) が分類された。卵巣表層上皮様クラスターは、卵巣明細胞癌 94 例中のうち 13 例 (14%)、高異型度漿液性癌 157 例中 7 例 (4%)、粘液性癌 8 例中 4 例 (50%)、類内膜癌 11 例中 3 例 (27%) が含まれた。卵管採様クラスターに含まれた 3 例の明細胞癌はいずれも TP53 変異を有し、さらに BRCA 変異シグネチャーが優位な症例であった。一方、ARID1A および PIK3CA 変異を有する症例では、それぞれ 95% が骨盤腹膜クラスターに含まれた。

#### 5) 分子生物学的分類

78 例の卵巣明細胞癌症例についてマイクロアレイを行い、階層型クラスタリングによって、2 つの主要なサブタイプを同定し発現遺伝子パスウェイ解析は、上皮間葉転換 (EMT) 伝子が有意に高発現のグループと免疫反応関連遺伝子高発現に分類された。

卵巣明細胞癌は、細胞起源を反映し得るメチル化プロファイル、および遺伝子変異プロファイルに基づいて、(1) 骨盤腹膜様のメチル化プロファイルでミスマッチ修復機構の破綻を伴う、(2) 骨盤腹膜様のメチル化プロファイルで PI3K 経路の変異に加えて SWI / SNF 複合体の遺伝子変異を伴うもの、(3) 骨盤腹膜様のメチル化プロファイルで PI3K 経路の変異陽性であるが、SWI / SNF 複合体の変異が低頻度の群)、(4) 卵巣表層上皮様のメチル化プロファイルを示し、ダブルネガティブ型である群、(5) 卵管採様のメチル化プロファイルを示し、BRCA-like な性質を有する群、の 5 つのサブグループに分類できると考えられた。

以上、本論文は、卵巣明細胞癌 78 例の統合ゲノム・エピゲノム解析を行い、細胞起源を反映したメチル化および変異プロファイルに基づき、層別化されることを明らかとした。その亜分類は、特定の変異プロファイルおよび変異シグネチャーを反映するのみならず、細胞起源によっても規定されていることが示唆された。こうした亜分類による生物学的特性を明らかにすることは卵巣明細胞癌の細胞起源や発癌機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。