

Title	Significance of TP53 mutations determined by next-generation "deep" sequencing in prognosis of estrogen receptor-positive breast cancer
Author(s)	宇治, 公美子
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34151
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について＜/a> をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	宇治 公美子
論文題名 Title	Significance of <i>TP53</i> mutations determined by next-generation “deep” sequencing in prognosis of estrogen receptor-positive breast cancer (次世代ディープシーケンシング法によって同定されたTP53遺伝子変異のエストロゲン受容体陽性乳癌の予後に対する意義)
論文内容の要旨	
〔目 的〕 TP53遺伝子変異は乳癌で最も頻度の高い遺伝子変異である。TP53遺伝子は癌抑制遺伝子であり、アポトーシス、細胞周期調整、血管新生、DNA損傷の修復などの働きに関与しており、遺伝子変異によるTP53経路の破綻は発癌や癌の進展過程に大きく影響していると考えられる。TP53遺伝子変異の検索法としては、p53蛋白質の発現を免疫染色にて調べる方法やサンガー法によるシーケンシング法が今までに報告されているが、いずれもその検出精度は十分でなくすべての遺伝子変異を同定することはできない。今回、我々は新しいシーケンシング技術である次世代シーケンサー (Next-generation sequencing : NGS) によってより正確にTP53変異を同定し、TP53変異陽性乳癌の臨床病理学的特徴、特に予後との相関を検討した。また、マイクロアレイによってTP53 関連遺伝子の発現シグニチャーを調べそのシグニチャーによってTP53変異の有無を予測する方法 (TP53 gene expression signature (TP53 GES)) と予後との相関についても解析した。 〔方法ならびに成績〕 115例のエストロゲン受容体陽性乳癌患者 (術後ホルモン療法のみ実施) の腫瘍組織からDNAを抽出しTP53遺伝子の全coding領域 (exon2~11) の遺伝子変異解析をサンガー法とNGS法で実施した。腫瘍組織の免疫染色にてp53蛋白発現を検討した。また、腫瘍組織から抽出したRNAを用いてマイクロアレイでTP53 GES解析、および、5つのintrinsic subtype分類 (luminal A, luminal B, HER2-enriched, basal-like, normal-like) を実施した。 サンガー法では20症例にTP53変異を認め (以下、SS-TP53変異とする)、NGS法ではサンガー法で同定した変異に加えて更に7症例の27症例の変異を同定した (以下、NGS-TP53変異とする)。サンガー法で同定できた変異とNGS法でのみ同定できた腫瘍の変異アレルの比率を比較するとNGS法のみで同定できた症例の変異率の方が有意に低率であった (33.9% vs 11.1% $P<0.001$)。SS-TP53変異陽性乳癌は、有意に腫瘍径が大きく ($P=0.002$)、組織学的異型度が高く ($P=0.001$)、かつ、intrinsic subtypeではluminal Aに対してHER2-enrichedやbasal-likeで有意にSS-TP53変異を多く認めた ($P=0.002$; $P=0.014$)。また、NGS-TP53変異陽性乳癌は、SS-TP53変異陽性乳癌と有意の相関を示した因子以外にもプロゲステロン受容体陰性 ($P=0.028$) およびHER2陽性 ($P=0.007$) と有意の相関を示した。 SS-TP53変異、NGS-TP53変異、p53免疫染色、TP53 GESと予後 (健存率) との相関を検討したところ、SS-TP53変異とTP53 GES解析それぞれ有意に予後との相関を示した ($P=0.04$; $P<0.001$)。一方、p53免疫染色とNGS-TP53変異は予後と有意の相関を示さなかった ($P=0.679$; $P=0.483$)。Cox比例ハザードモデルを用いた多変量解析ではTP53 GESが独立した予後因子であった。 〔総 括(Conclusion)〕 NGS法ではより高い感度でTP53変異を同定することが可能であった。しかし、NGS法でのみTP53変異が同定された症例の予後は、予想外に良好でSS-TP53変異が予後と相関したのに対してNGS-TP53変異は予後と有意の相関を示さなかった。NGS法によってのみTP53変異が同定された症例では、腫瘍組織における腫瘍細胞の割合が少なくリンパ球や正常乳腺組織の高度のコンタミネーションが認められた。たとえTP53変異が陽性であっても腫瘍細胞量が少ない乳癌では予後は不良とはならないことが示唆された。一方、TP53 GESはエストロゲン受容体陽性乳癌に対する強力な予後因子であることが示された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		宇治 公美子	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	野口 眞三 郎
	副 査	大阪大学教授	本村 正
	副 査	大阪大学教授	森 菜一

論文審査の結果の要旨

本申請者は、エストロゲン受容体陽性乳癌 (n=115例) を対象としてTP53遺伝子の変異をサンガー法 (SS) と次世代シーケンシング法 (NGS) を用いて (deep sequencing) 解析した。また、免疫染色によるp53蛋白発現とマイクロアレイによるTP53 gene expression signature (TP53 GES) を調べTP53変異や予後との関連等についても検討した。SSでは20例に変異が検出され (SS-TP53変異)、NGSでは更に7例の新たな変異が検出された (NGS-TP53変異、計27例)。SS-TP53変異は腫瘍径、組織学的異型度、p53陽性、TP53-GES変異と有意に相関を示したが、NGS-TP53変異は、これに加えてプロゲステロン受容体陰性、HER2受容体陽性と有意な相関を示した。また、予後に関してSS-TP53とTP53-GESは有意に相関したが、NGS-TP53とp53免疫染色は有意な相関を示さなかった。更に、多変量解析の結果、TP53-GESが独立した予後因子であることが判明した。以上のようにNGSで検出されたTP53変異の臨床病理学的意義を検討した本論文は、学位に値するものと認める。