



Ab initio network expander
による免疫チェックポイント探索：Tim-3
の特定と機能解析：学術活動

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 福島県立医科大学看護学部 公開日: 2025-04-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 末永, 遥香, 森, 努 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2002365

学 術 活 動

**Ab initio network expander による免疫チェックポイント探索：
Tim-3の特定と機能解析**末永 遥香 (看護学部4年)
森 努 (看護学部生命科学部門)

要 旨

免疫チェックポイント標的治療は医学の主要課題であるが、奏効率は10%との報告がある。これは未知チェックポイントの存在を示唆するが、その発見には莫大な資源が必要である。私たちは最近開発した *Ab initio network expander* で *PD-1* 経路に関わる未知遺伝子を探索し、*Tim-3* を特定した。さらに informatics 解析から、*Tim-3* がチェックポイントに関連することを確認した。最後に SNP-dependent prolongation of prognosis の検討により、*Tim-3* 阻害で治療効果が得られることが示唆された。以上から *Tim-3* の標的性が支持され、治療法開発のさらなる展開が期待される。

はじめに

従来、免疫チェックポイントの同定には膨大な時間、労力、資金が必要であった。しかし、実験に依存せず計算による同定が可能になれば、発見過程に費やされるリソースの大幅な削減が期待される。これにより、資源の効率的な活用や患者負担の軽減の実現に繋がると考えられる。

本研究では、新たに開発された *Ab initio network expander* (AINE) を用いて新規遺伝子の探索を行い、さらに *Ab initio* 遺伝子軌道法 (遺伝子軌道法) を用いて疾患関連性および治療標的性の予測を行った¹⁾。AINE は、既知の遺伝子経路に属しながら未特定の新規遺伝子を効率的に特定する情報処理技術 (informatics 技術) であり、以前開発された遺伝子軌道法における計算負荷の問題 (全遺伝子解析に年単位を要する) を克服することで、高速なネットワーク解析を実現した。

AINE を用い、全遺伝子を対象にして *PD-1* 免疫チェックポイント経路に属する未知遺伝子を探索したところ、最上位群に *Tim-3* が見出された。さらに遺伝子軌道計算から、*Tim-3* は当研究チームが注目する免疫チェックポ

イント *KYNU* との相互情報量 (MI) が最大であると判明した。複数の informatics 技術を用いた解析の結果から、*Tim-3* が免疫調節・チェックポイントに関わり、その機能阻害が治療効果に結びつくことも示唆された。

Tim-3 を *PD-1* 経路と同時に遮断する治療法は既に検討されており、Phase 3 の段階である²⁾。ここで紹介する informatics は、*Tim-3* の治療標的としての有望性を情報理論の視点から示すものであり、免疫療法の未来に貢献できる可能性がある。

AINE による新規遺伝子の探索

AINE は、既知の遺伝子経路 (ここでは *A* とする) に属する未知遺伝子 (ここでは *Gx*) を効率的に特定するために開発された informatics 技術である。従来の遺伝子軌道法は個別遺伝子の機能計算に適していたが、ゲノム全体の広範な遺伝子機能計算に適用するには計算負荷が過大となる問題があった。AINE は遺伝子ネットワーク全体を対象とする大規模計算を高速化することで、この課題を克服した。私たちは、この技術を応用して新たな治療標的遺伝子の発見を目指すこととした。その最初の目標に選んだのは、がん免疫の制御に関わる *PD-1* 経路である。

PD-1 経路は代表的な免疫チェックポイント経路である。通常、がん細胞が *PD-L1* を発現すると、T 細胞上の受容体である *PD-1* と結合して免疫反応を抑制する。本来 *PD-1* は免疫調節において重要な役割を担っており、*PD-L1* と結合することで過剰な免疫活性化を防いでいる。しかし、がん細胞はこの機能を悪用し、免疫応答を抑制することで自身の生存と増殖を促進する。こうした *PD-1* と *PD-L1* の相互作用を標的とした治療戦略は、免疫療法の重要なアプローチとして利用されている。

現代の免疫チェックポイント標的治療は、*PD-1* 経路を標的とする *PD-1* 阻害剤 (ニボルマブ、ペンブロリズマブ) を投与し、がん免疫に関わる T 細胞を再活性化させるものである。しかし、その奏効率はわずか10%と報

告されている³⁾。この事実は、知られざる免疫チェックポイント分子の存在を強く暗示しており、その探索が大きな課題となっている。一方、そうした未解明の分子の候補として注目されるのが *Tim-3* である。*Tim-3* は免疫細胞に発現し、免疫抑制に関与する分子であり、アレルギーや自己免疫疾患との関連も報告されてきた⁴⁾。だが、*PD-1* 経路と *Tim-3* の間に直接的な相互作用が存在するかどうかは明らかにされていない。以下に述べる通り、私たちは AINE によって、*PD-1* 経路と *Tim-3* を結びつけることに成功した。

従来の医学研究においては、実験的手法により直接的知見を得る研究が主流であった。しかし実験では検討対象が狭く限られるという制約があり、全体的な生物学的ネットワークや複雑な相互作用を網羅的に理解することは難しい。これに対して、AINE は、ある遺伝子経路に属するにも関わらず、いまだ実験対象とされていないが故に未発見であるような遺伝子を包括的に特定する informatics 技術である。AINE では、1つの遺伝子 G_x と経路 A が情報をどれだけ共有し、互いに影響を与えるかを示す指標である相互情報量 (MI) を算出する。MI は情報理論における指標であり、2つの確率変数間で共有される情報量 (情報エントロピー) を表し、変数間の相互依存性を意味する。 A を遺伝子 G_1, G_2, \dots, G_n からなる経路とし、 A の情報量を $H(A)$ とする。このとき $H(A)$ は遺伝子 G_1, G_2, \dots, G_n の個々の情報量 $H(G_1), H(G_2), \dots, H(G_n)$ の和集合として、下記の計算式で示される。

$$H(A) = H(G_1, G_2, \dots, G_n)$$

AINE では対象遺伝子 G_x と特定経路 A との MI を、個々の遺伝子間の相互作用の総和で近似して、下記の計算式で算出する。

$$MI(G_x; A) \simeq \sum_{i=1}^n MI(G_x; G_i)$$

ここで、 $MI(G_x; G_i)$ は遺伝子 G_x と G_i の MI である。例えば、 G_x と G_i が同じ遺伝子経路に属する場合、両者は双方向性に影響を及ぼし合う可能性がある。このとき、MI が高いほど G_x と G_i の関連性が強いことを示し、遺伝子間の関係性を定量的に把握できる。このように MI の評価は、生体プロセスにおける情報処理過程を理解する上で役に立つ。

遺伝子軌道法による遺伝子機能と疾患関連性の予測

続いて遺伝子軌道法の原理を紹介する¹⁾。これはネットワーク情報量を指標に、目的遺伝子の機能を包括的に評価する計算法である (特許第6820621号)。遺伝子が互

いに影響し合う遺伝子情報の空間を考えると、1つの遺伝子 G_i が他の遺伝子 G_j に与える作用の総和は以下で表される。

$$\varphi[\vec{r}(G_i)] = \sum_{j \neq i} c_{ij} \chi_{ij}(r)$$

ここで、 r は G_i と G_j 間の情報距離、 χ_{ij} は G_i が G_j に及ぼす作用、 c_{ij} は χ_{ij} の重みの係数を表す。 $\varphi[\vec{r}(G_i)]$ は、遺伝子 G_i が他のすべての遺伝子 G_j に及ぼす作用の総和で、 G_i のネットワーク機能を表現する。言い換えると、遺伝子 G_i は分子機能以外に、他の多くの遺伝子に影響を与えることで、間接的ながら多彩な機能を発揮することになる。遺伝子軌道法は、このネットワーク機能を、実験なしに計算することができる。

SDPP による標的性予測

森は、既知のチェックポイント遺伝子に共通する性質として、single nucleotide polymorphism (SNP) でがん患者の予後が良好となる現象 (SDPP) を報告した¹⁾。これはアミノ酸置換を来たす変異によりタンパク構造が破壊される結果、チェックポイント阻害と同様の帰結となるためと推察され、薬剤標的性と関連付けられる。SDPP による予後変化は、がん遺伝子データベース cBioPortal から得られる遺伝子変異および生存率情報⁵⁾ と、タンパク構造変化を検出するアルゴリズム (Sift⁶⁾, PolyPhen-2⁷⁾) とを組み合わせて計算される。

AINE による新規遺伝子探索

新たな治療標的を特定する目的で、私たちは AINE を実行し *PD-1* 免疫チェックポイント経路に存在する未知遺伝子特定を試みた。まず、検索の出発点となる *PD-1* 経路の遺伝子群を、遺伝子データベース Ingenuity Pathway Analysis (IPA) から取得した⁸⁾ (図 1 a)。IPA は実験結果に基づいた文献情報を網羅するデータベースであり、*PD-1* 経路には約100個の遺伝子が登録されている。しかし過去に行われた実験範囲以外にも重要な未発見遺伝子が存在する可能性があり、AINE で新規遺伝子を探索することとした。この IPA 上の *PD-1* 経路の遺伝子群を基盤データセットとし、Python で作成した AINE のコードを実行して、ゲノム上17,343個の全遺伝子 G_x と *PD-1* 経路 (A) との相互情報量 $MI(G_x; A)$ を個別に算出した (図 1 b, 点線内)。

次いで、得られたデータを MI の降順で並べ替えると (図 1 c, 点線内)、*PD-1* 経路と大きな情報交換を行う遺伝子の集合が特定された。予想通り、IPA に登録されている *PD-1* 経路の既知遺伝子群は上位にランクしており、

a

AKT1, AKT2, AKT3, B2M, BCL2L1, CBLB, CD28, CD80, CD247, CD274, CDK2, CDKN1B, CIP2A, CSK, CSNK2A1, CSNK2A2, CSNK2A3, CSNK2B, ELK1, FBXO38, FOXP3, GSK3B, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DMA, HLA-DMB, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DQB3, HLA-DRA, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IFNG, IFNGR1, IFNGR2, IL2, IL4, IL12A, IL12B, IL2RA, IL2RB, IL2RG, JAK1, JAK2, JAK3, LAT, LATS1, LATS2, LCK, LCP2, MR1, NGFR, PDCD1, PDCD4, PDCD1LG2, PIK3C3, PIK3C2A, PIK3C2B, PIK3C2G, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, PIK3R3, PIK3R4, PIK3R5, PIK3R6, PLCG1, PRKCQ, PTEN, PTPN11, RASGRP1, SKP2, SMAD3, STAT5A, STAT5B, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TNF, TNFRSF11B, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TRA, TRB, TYK2, YAP1, ZAP70, ZBTB12

b

No.	Gene	MI	Total	Fold	Total	Fold2	Total
1	A1CF	0.566	172				38
2	A2M	1.179	896				85
4	A2ML1	0.742	286				34
5	A4GALT	0.873	491				65
6	A4GNT	0.552	616				75
7	AAAS	0.783	-206				-23
8	AACS	0.696	-160				-10
9	AADAC	0.593	335				53
10	AADACL3	0.447	392				57
11	AADAT	0.878	56				3
12	AAGAB	0.807	-146				-20
13	AAK1	0.863	463				64
14	AAMP	0.686	-120				-5
15	AANAT	0.614	399				59
16	AARS2	0.547	76				11
17	AASDH	0.784	346				40
18	AASDHPPT	0.725	265				34
19	AASS	0.783	361				40
20	AATF	0.703	-13				-7
21	AATK	0.645	268				50
22	ABAT	0.896	274				45
23	ABCA1	0.915	516				58
24	ABCA10	0.689	386				66
25	ABCA11P	0.742	133				12
26	ABCA12	0.742	388				64
27	ABCA13	0.805	470				66
28	ABCA2	0.720	87				6
29	ABCA3	0.832	196				20
30	ABCA4	0.681	504				65
31	ABCA5	0.724	180				21
32	ABCA6	1.050	830				79
33	ABCA7	0.817	386				49
34	ABCA8	0.856	616				81
35	ABCA9	0.875	753				79
36	ABCB1	1.105	845				89
37	ABCB10	0.640	350				36
38	ABCB11	0.554	509				70
39	ABCB4	0.864	714				83
40	ABCB5	0.785	539				79
41	ABCB6	0.750	-174				-21
42	ABCB7	0.717	706				77
43	ABCB8	0.787	-92				-13
44	ABCB9	0.620	-16				-6
45	ABCC1	0.758	340				34
46	ABCC10	0.597	215				31
47	ABCC11	0.703	240				47



c

No.	Gene	MI	Total	Fold	Total	Fold2	Total
2	SASH3	2.443	1080				8
3	IL10RA	2.435	1040				8
4	NCKAP1L	2.424	1047				7
5	CD3E	2.420	974				7
6	SLA2	2.405	1008				8
7	ARHGAP9	2.388	978				7
8	CCR5	2.382	979				6
9	ITGAL	2.379	1078				8
10	IL12RB1	2.348	1010				7
11	IKZF1	2.336	1148				8
12	DOCK2	2.329	970				7
13	CD4	2.329	1046				8
14	WAS	2.320	1038				7
15	SNX20	2.315	1040				8
16	BIN2	2.309	1026				7
17	SIRPG	2.296	1037				7
18	DOK2	2.279	932				6
19	SPN	2.275	1060				8
20	LCP2	2.269	927				6
21	CYTH4	2.269	1039				7
22	CD3D	2.267	939				7
23	SAMSN1	2.266	1048				8
24	IL21R	2.264	1114				8
25	UBASH3A	2.263	1025				8
26	EVI2B	2.263	1003				7
27	MYO1F	2.262	976				7
28	CD53	2.260	873				6
29	ITGB2	2.254	1016				7
30	SELPLG	2.247	954				7
31	CIITA	2.246	973				6
32	IL2RB	2.233	1056				8
33	ITK	2.220	1101				8
34	ACAP1	2.209	927				6
35	TIGIT	2.209	891				6
36	ZNF831	2.204	966				7
37	GPR65	2.204	1073				8
38	PLEK	2.203	978				7
39	HCK	2.195	997				7
40	BTK	2.188	1005				8
41	SPI1	2.183	928				6
42	MS4A6A	2.183	1086				8
43	PTPRC	2.177	1034				7
44	CORO1A	2.175	983				7
45	CD3G	2.167	1007				7
46	CD3G	2.165	1067				8
47	CD3G	2.162	856				6

図 1 計算手順の概要

- a) IPAに登録されているPD-1経路の遺伝子群。PD-1/PD-L1を含め103の遺伝子が登録。
- b) a)の遺伝子群にAINEのPythonコードを適用して、 $MI(G_x; A)$ を計算。Excelで、各遺伝子をアルファベット順にソートし、PD-1経路との $MI(G_x; A)$ (点線内)を計算。
- c) 計算結果を $MI(G_x; A)$ の降順でソート。

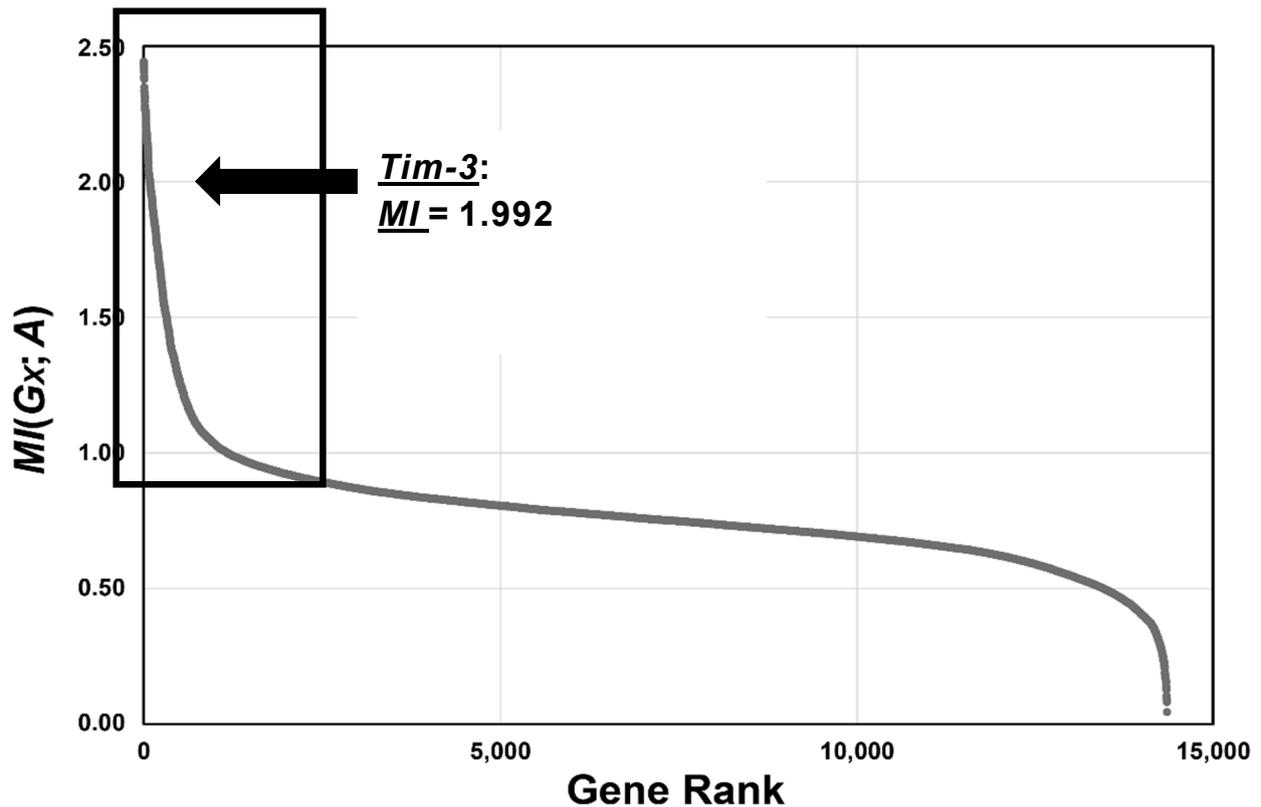


図2 $MI(G_x; A)$ の順位分布

図1c. のExcelデータを図で表したもの。 $MI(G_x; A)$ が1.00以上の領域に該当する遺伝子を抽出した結果（太枠内）、合計17,343個の遺伝子の内1169個（6.7%）の遺伝子が検出。 *Tim-3*の $MI(G_x; A)$ は1.992。

AINE 検索の正しさを裏付けている。しかし、上位遺伝子の殆どは *PD-1*経路との直接的な関連性が未報告の遺伝子だった。以上の知見は、既知遺伝子群以外にも *PD-1*経路との関連性の強い遺伝子が図1cデータの上位に数多く存在することを示唆している。

得られたMIの順位分布をプロットしたところ（図2）、MIが1.00以上の領域で勾配が急峻であることが見出された。特に *Tim-3*はこの領域に存在しており、全遺伝子中の上位0.52%（91位）にランクされたことから、*PD-1*経路における重要な構成要素である可能性が示唆された。以上の結果から、AINEを用いた計算により、既知遺伝子経路に関連する未知遺伝子候補を効率的に発見できることが示唆される。

遺伝子軌道法による *Tim-3*のネットワーク解析

特定された *Tim-3*の生理機能を明らかにする目的で、そのネットワーク構造を遺伝子軌道法により求め、次いで所属する経路を検索した。遺伝子軌道法は検討対象の遺伝子が、他の遺伝子と共有する情報量を包括的に定量する手法である。具体的には、*Tim-3*を中心にした遺伝子間MIを全遺伝子を対象として算出し、それらに基づいて *Tim-3*との相互依存性の強い遺伝子を2,000個（上位10%）抽出した。*Tim-3*のネットワーク機能は、これら

の遺伝子に影響を与えることで発揮される。

得られた遺伝子の集合、すなわち“*Tim-3*遺伝子ネットワーク”の中に含まれる生物学的経路を特定するため、IPAを用いた。IPAは膨大な文献データに基づいて、対象遺伝子の集合が包含する遺伝子経路や生物学的プロセスを特定できる。図3に示す通り、*Tim-3*と関連性が大きい経路のほとんど（20経路のうち18経路）が免疫系の制御経路であり、Pathogen induced cytokine storm signaling pathway (z -score, 10.924; p -value, 7.39E-62), Th1 and Th2 activation pathway (z -score, N.D.; p -value, 1.96E-53), Phagosome formation (z -score, 12.378; p -value, 1.54E-38), Natural killer cell signaling (z -score, 5.208; p -value, 4.8E-37)などが上位にランクされた。これらはいずれも統計学的に極めて有意な値であり、*Tim-3*が感染症への応答、免疫調節、腫瘍免疫、慢性炎症疾患など、免疫機能に幅広く関与することを示している。これらの結果は、既知の知見⁹⁾と良く一致している。

特筆すべきは、遺伝子軌道法により *Tim-3*が *PD-1*経路と相互排他的 (z -score = -3.920) に働く様子が検出されたことである（図3*）。相互排他性とは、発がんに関与する複数の遺伝子間で、どれか一つのみが「排他的に」活性化される現象であり、それらが同一経路に所属すると考えられてきた^{10) 11)}。加えてcBioPortalでの解

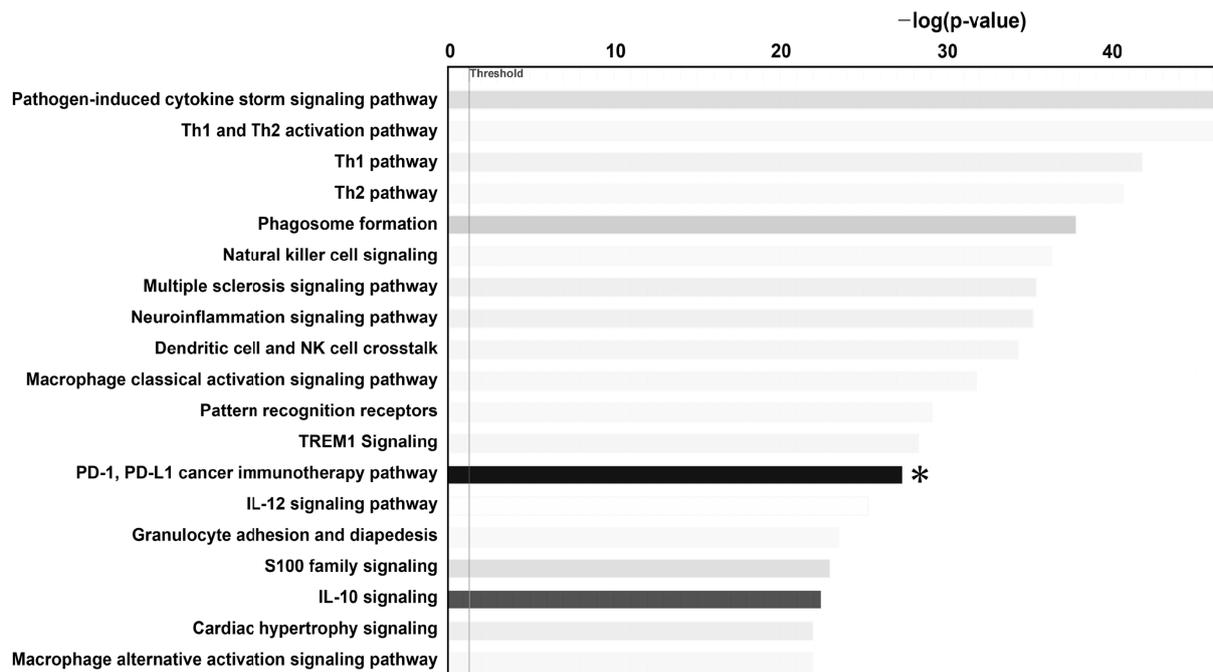


図3 *Tim-3*が関与する免疫機能の予測結果
*Tim-3*と相互情報量が大きい経路を示す。縦軸には *Tim-3*との相互情報量が大きい順に並べた経路、横軸はP値を $-\log_{10}(p)$ に変換したものを示す。*Tim-3*と相互情報量が大きい経路から降順に配置。濃い色が *Tim-3*と相互排他的に働くもの、薄い色が *Tim-3*と同じ方向に働くものを示す。

析⁵⁾により、腎明細胞癌 (KIRC) で *Tim-3*と *PD-1*経路の相互排他性が示された ($p = 0.046$)。これらの結果から、*Tim-3*が *PD-1*経路と機能的に関連することが期待される。以上の所見は *Tim-3*が免疫反応を調節する役割を果たすことと、腫瘍免疫に関わることを示唆している。

*Tim-3*の生理機能・病態関連性の解析

経路解析に続いて、*Tim-3*の生物学的機能および疾患関連性についての IPA 解析 (図4) を行った。図に示された通り、*Tim-3*が免疫調節や炎症反応の経路と有意に関連性を持ち、重要な機能を持つことが示唆された。上位にランクされた項目には、① Hematological system development and function (z -score, 9.646; p -value, 6.7E-160)、② Cellular movement (z -score, 10.264 ; p -value, 5.45E-169)、③ Immune cell trafficking (z -score, 10.318 ; p -value, 1.06E-164)、などが含まれ、各項目ともに統計学的に有意な蓋

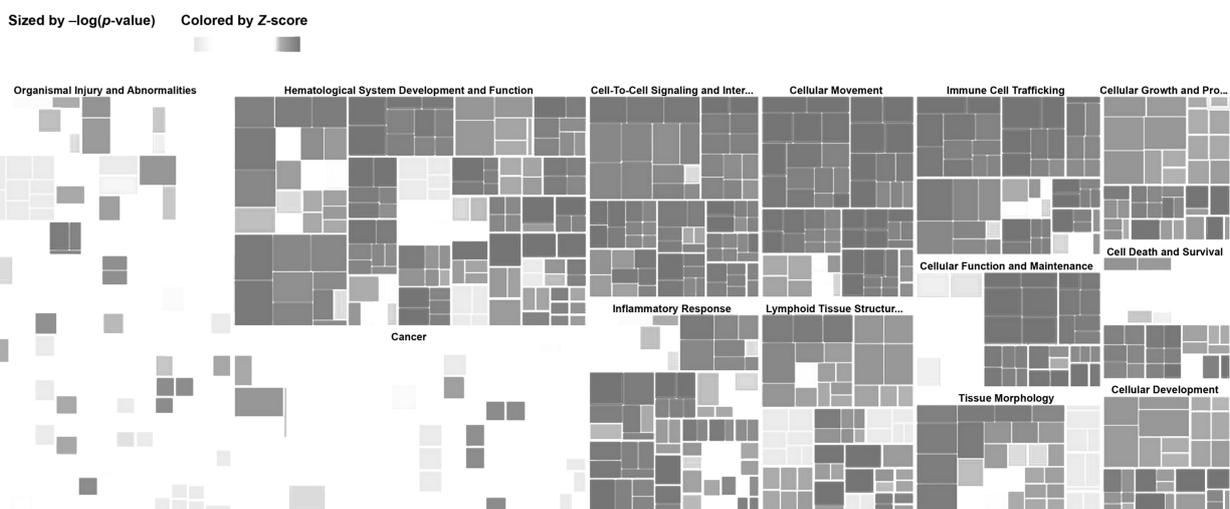


図4 *Tim-3*と疾患の関連性
 遺伝子軌道法を用いて *Tim-3*と関連する遺伝子軌道を IPA で解析した結果。濃い色が *Tim-3*と同じ方向に働く経路や機能を示し、薄い色が *Tim-3*と排他的に働く経路や機能を示す。

然性と働きの大きさを示している。以上は、*Tim-3*が感染部位や腫瘍組織への免疫細胞の移動を促し、炎症誘導や免疫調節に役割を果たすことを示している。これらの所見は先行研究⁹⁾と一致している。

SDPP による標的性予測

最後に、*Tim-3*の治療標的性を知る手掛かりを得るため、遺伝子変異とがん患者の予後の関係について解析を行った(図5)。免疫チェックポイント治療は標的遺伝子の機能阻害により効果を得るものであるから、当該遺伝子を失活させる変異(loss-of-function mutation)は、がん患者の生命予後を改善させると期待される。事実、遺伝子変異が良好な予後と有意に関連する現象が、既知の免疫チェックポイント分子の多くで観察される²⁾。

図5aは、*Tim-3*に遺伝子変異が検出されたがん患者が、変異が検出されなかった患者よりも80ヶ月までの全生存率が高いことを示している。具体的には、遺伝子に種々の変異(Missense, Truncating, Splice, etc.)を有する患者群(n=68)は、変異が検出されない(other patients)患者群(n=10,751)と比較して有意に予後が良くなる($p=0.0058$)ことが確認された。これらの結果から*Tim-3*に変異があることで腫瘍病態が改善される可能性がある。

こうした変異の影響を明白にするために、SNPによる構造変化に着目した。上記の考察から、*Tim-3*のアミノ酸置換で機能が抑制される場合、予後延長が観察されることが期待される。事実、特定のSNPが、がん患者の生命予後を延長する現象SDPPが観察された(図5b)。特にタンパク質の生理機能を変化または破壊するSNP(destructive SNP)を有する患者群(n=10)で、その他(other patients)の患者群(n=10,769)と比較して生存率が有意に高い($p=0.035$)ことが示された。一方、タンパク質の構造や生理機能に影響を与えない、または影響が小さいSNP(nondestructive SNP)を有する患者群(n=30)では有意な差は認められなかった($p=0.13$)。これらの結果は、*Tim-3*の機能抑制が免疫応答を促進し、腫瘍進展を抑えることで、予後改善につながることを示唆している。以上から、*Tim-3*の分子機能を阻害することで治療効果が得られる可能性がある。

最後に

本研究では、未知チェックポイント同定のために、AINEによるPD-1経路に属する未知遺伝子の探索を行った。さらに、見出された*Tim-3*に遺伝子軌道法を適用し、その遺伝子機能及び疾患関連性の予測可能性を検討した。AINEでPD-1経路に強く関連する遺伝子として

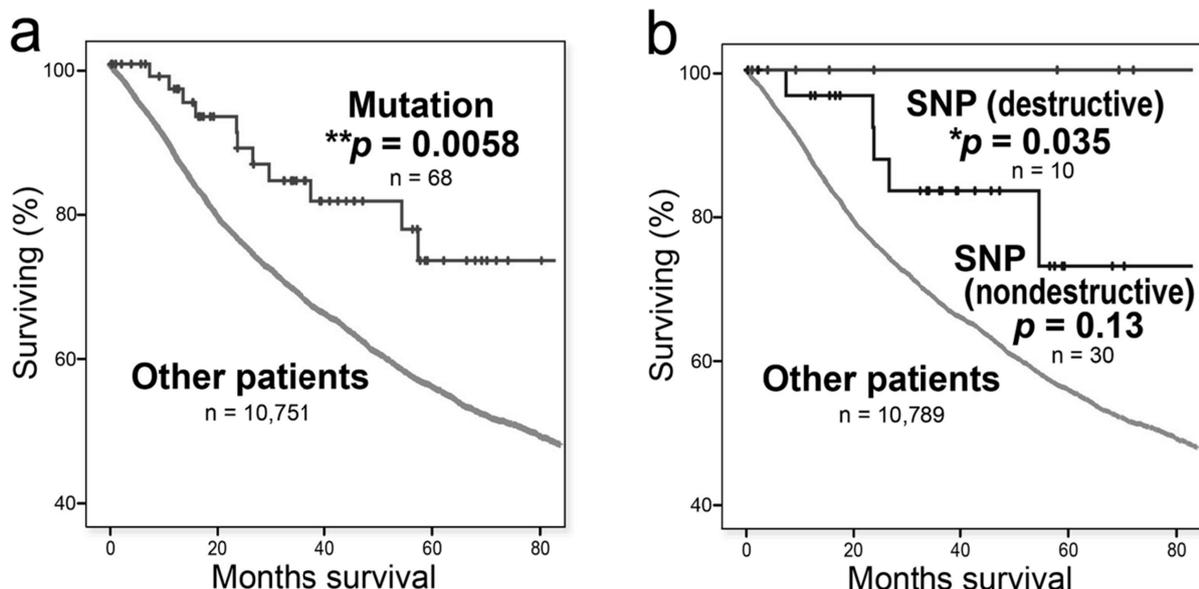


図5 *Tim-3*の遺伝子変異と予後との関係

a) 生存曲線

遺伝子変異がある患者群 (Mutation) とそれ以外の患者群 (Other patients) の全生存率を示した。

b) 生存曲線

構造破壊的 SNP を有する患者群 (destructive)、非構造破壊的 SNP を有する患者群 (nondestructive)、それ以外の患者群 (Other patients) の全生存率を示した。

※データ：癌データベース TCGA Pan-Cancer Atlas¹²⁾。

*Tim-3*が検出され、解析を行ったところ *Tim-3*が免疫チェックポイント経路と機能的な関連性を持つことが示唆された。さらに SDPP 解析より、治療標的性が示唆された。従来の実験法による未知チェックポイントの特定には膨大な時間と労力と資金が要求される中で、この技術は新たな免疫チェックポイントの特定において大きな可能性を秘めており、さらなる応用が期待される。今回は、*Tim-3*に焦点を当てて研究を行ったが、今後は *Tim-3*以外の免疫チェックポイントの解明に取り組んでいきたい。森先生をはじめ今回の研究活動に協力して下さった先生方にはこの場をお借りして心から感謝を申し上げたい。

文 献

- 1) Mori, T, Kawamura, T, Ikeda, D, et al.: Influential Force: from Higgs to the Ab Initio Genetic Orbital Method, *Jxiv*, 156, 102-105, 2022. DOI: 10.51094.
- 2) Zeidan, A. M., & Giagounidis, A.: STIMULUS-MDS2 design and rationale: a phase III trial with the anti-TIM-3 sabatolimab (MBG453) + azacitidine in higher risk MDS and CMML-2, *Future oncol*, 19 (9) , 631-642, 2023. DOI: 10.2217.
- 3) Haslam, A: Estimation of the Percentage of US Patients With Cancer Who Are Eligible for Immune Checkpoint Inhibitor Drugs, *JAMA network open*, 3 (3) , 2-3, 2020. DOI: 10.1001.
- 4) Wolf, Y. A., Anderson, A. C., Kuchroo, V. K., et al.: TIM-3 comes of age as an inhibitory receptor, *Nature Reviews Immunology*, 20, 173-174, 2020. DOI: 10.1038.
- 5) Cerami, E., Gao, J., Dogrusoz, U., et al.: The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data, *Cancer discov*, 2 (5) , 401-404, 2012. DOI: 10.1158.
- 6) Vaser, R., Adusumalli, S., Leng, S. N., et al.: SIFT missense predictions for genomes, *Nature protocols*, 11 (1) , 1-9, 2016. DOI: 10.1038.
- 7) Adzhubei, I., Jordan, D. M., & Sunyaev, S. R.: Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2, *Current protocols in human genetics*, 76 (1) , 7-20, 2013. DOI: 10.1002.
- 8) Ladefoged, P.: Some reflections on the IPA, *Journal of Phonetics*, 18 (3) , 335-346, 1990. DOI: 10.1016.
- 9) Joller, N., Anderson, A. C., Kuchroo, V. K., et al.: LAG-3, TIM-3, and TIGIT: Distinct functions in immune regulation, *Immunity*, 57 (2) , 209-211, 2024. DOI: 10.1016.
- 10) Ciriello, G., Cerami, E., Sander, C., et al.: Mutual exclusivity analysis identifies oncogenic network modules, *Genome research*, 22 (2) , 398-406, 2012. DOI: 10.1101.
- 11) Babur, Ö., Gönen, M., Aksoy, B. A., et al.: Systematic identification of cancer driving signaling pathways based on mutual exclusivity of genomic alterations, *Genome biology*, 16, 1-10, 2015. DOI: 10.1186.
- 12) Tomczak, K., Czerwi N. P., & Wiznerowicz, M.: Review The Cancer Genome Atlas (TCGA) : an immeasurable source of knowledge, *Contemp oncol (Pozn)* , 19 (1A) , 68-77, 2015. DOI: 10.5114.