

令和元年5月10日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11124

研究課題名(和文) 子宮平滑筋肉腫の高悪性度を規定する遺伝子異常の解析

研究課題名(英文) analysis on genetic abnormality related to aggressive behavior of uterine leiomyosarcoma

研究代表者

渡利 英道 (Watari, Hidemichi)

北海道大学・大学病院・教授

研究者番号：10344508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：子宮平滑筋肉腫の診断で治療が行われている、ホルマリン固定パラフィン包埋検体を用いた解析を実施した。子宮平滑筋肉腫と診断された摘出子宮検体から、それぞれ肉腫組織と(正常)筋層組織を採取し、それらからmRNAを抽出し、デジタルカウント遺伝子発現解析(ncounter)および網羅的遺伝子発現解析を実施した。前者においては正常筋層組織と比べて肉腫組織内の免疫環境の相違を検討すべく PanCancerImmune Profiling for Humanパネルを用いて検討した。子宮に限局した子宮平滑筋肉腫症例6例において腫瘍免疫と予後との関連を検討した結果、予後良好群では特にT細胞免疫系の亢進が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、腫瘍浸潤リンパ球は重要な予後因子であり、個々の腫瘍の分子生物学的な特徴と増殖過程で形成される微小環境との関連を検討し、その最適化を行うことが子宮平滑筋肉腫患者の予後を改善する方法になるものと推察された。今後、子宮平滑筋肉腫に対する有効な治療開発を行うにあたり、抗がん薬や放射線療法とPD1-PDL1経路などの免疫チェックポイント阻害薬の併用や腫瘍浸潤Tリンパ球輸注療法との併用の有効性についての検討を行うことで、きわめて予後不良な子宮平滑筋肉腫の治療成績向上に資する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissue specimens of uterine leiomyosarcoma were used for gene expression profile analysis (SurePrint G3Human GE8x60K v3, agilent), and digital count gene expression analysis (ncounter) compared with normal uterine muscle tissue specimens. Using PanCancerImmune Profiling for Human panel, difference of immune environment was analyzed between normal and leiomyosarcoma tissues. We found that the number of immune cells decreased in leiomyosarcoma compared with normal tissue. Additionally, we analyzed the relationship between tumor immunity and prognosis among six leiomyosarcoma patients with stage I disease who underwent hysterectomy+bilateral salpingo-oophorectomy and adjuvant chemotherapy. T cell immunity was activated in the patients who survived after 12 months after initial treatment compared with those who died within 12 months.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮平滑筋肉腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

筋組織から発生する悪性腫瘍である平滑筋肉腫は、盛んな細胞増殖能に加えて高い浸潤、転移能を示す悪性度の極めて高い腫瘍である。子宮体部肉腫は全子宮悪性腫瘍の3 - 5%を占める稀な腫瘍であり、発生頻度が低いために多数例での臨床試験の実施が困難であること、通常の抗悪性腫瘍薬が他の婦人科悪性腫瘍に比べて無効であることが多いこと、などの理由により標準的治療法が確立していない。現状では平滑筋肉腫の治療として外科的切除がなされ、再発ハイリスク例や進行、再発例に対しては化学療法や放射線療法が行われているが、その治療効果は他の婦人科悪性腫瘍に比べて明らかに低い。子宮平滑筋肉腫は子宮体部肉腫のなかで最も発生頻度が高いが、本邦での治療成績は50%生存期間が27.5ヶ月、II期以上では11.7ヶ月と予後は極めて不良である。子宮平滑筋肉腫はaggressiveに増殖転移を起こす高悪性度の形質を有しており、早期に血行性転移をきたすため、全身療法としての化学療法が考案されてきた。単剤ではdoxorubicinがfirst-lineで25%の奏効を示し、ifosphamideを加えた多剤併用療法では28-30%の奏効率が報告されているが、進行子宮平滑筋肉腫のmedian survivalが1年に満たないことからすると、これらの薬剤では病状をコントロールするに満足できる治療法とはいえない。抗がん薬単独での治療が困難であることより血管新生因子阻害薬を始めとする分子標的薬の有効性の検討が望まれているが、抗VEGF抗体であるBevacizumabの効果は否定され、軟部肉腫に対して有用性が示された、multiple tyrosine Kinase inhibitorであるpazopanibの効果も限定的である可能性が高い。子宮平滑筋肉腫患者の予後改善のためには、子宮平滑筋肉腫の細胞増殖能、浸潤・転移能、治療抵抗性(化学療法耐性、放射線療法耐性)に関して、分子生物学的手法を用いた詳細な基礎的検討が必要な状況である。

### 2. 研究の目的

子宮筋組織から発生する悪性腫瘍である子宮平滑筋肉腫は、盛んな細胞増殖能に加えて高い浸潤・転移能を示し、化学療法や放射線療法に対して抵抗性を示す悪性度の極めて高い腫瘍である。子宮平滑筋肉腫の化学療法あるいは放射線療法に対する抵抗性、高い浸潤・転移能がどのような遺伝子異常、細胞内情報伝達系の異常に起因しているのかについて基礎的な検討を行い、既知あるいは新規の治療標的を見いだすことで子宮平滑筋肉腫に対して有効な分子標的薬剤の開発につながる基礎的な知見を見いだすこと、浸潤・転移のバイオマーカーを同定することを本研究の目的とする。

### 3. 研究の方法

子宮平滑筋肉腫の診断で子宮摘出を行う患者からあらかじめ同意を得て採取・保存した、非腫瘍性筋組織、平滑筋腫組織、平滑筋肉腫組織のそれぞれから抽出したmRNAを用いて次世代シーケンサによる遺伝子変異解析およびマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、特に非腫瘍性筋組織、子宮平滑筋腫組織に比べて子宮平滑筋肉腫で高発現あるいは低発現する遺伝子に着目して機能解析を実施する。さらに、子宮平滑筋肉腫組織FFPE検体を用いて、アジレント社のSurePrint G3Human GE8x60K v3を用いた網羅的遺伝子解析、PanCancer Immune

Profiling for Human パネルを用いてデジタルカウント遺伝子発現解析(ncounter)を実施し、肉腫組織内の免疫環境の相違と予後との関連を検討した。

#### 4. 研究成果

研究期間中の新規平滑筋肉腫患者が少なかったこと、採取した組織において壊死が強く遺伝子発現解析を実施するに足る組織の採取ができなかったことから、保存検体を用いた解析を行う方針に変更した。その結果、正常筋層に比べた場合、肉腫組織においては免疫細胞の数が全体として減少している傾向を示すことが確認された。さらに、子宮に局限した子宮平滑筋肉腫症例6例において腫瘍免疫と予後との関連を検討した。治療はいずれも子宮及び両側付属器切除術および術後補助化学療法を施行し、6例中4例が再発し原病死された。再発まで12ヶ月以上の予後良好群とそれ未満の予後不良群に分けて検討した結果、予後良好群では特にT細胞免疫系の亢進が確認された。この結果は網羅的遺伝子発現解析の結果とも一致していた。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）:

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。