

令和元年6月10日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11141

研究課題名(和文) 子宮内膜癌に対する革新的新規治療戦略の構築

研究課題名(英文) Development of innovative new therapeutic strategies for endometrial cancer

研究代表者

中村 圭一郎 (Keiichiro, Nakamura)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・講師

研究者番号：90359886

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)：研究成果の概要(和文)：我々は子宮内膜癌に対し以前から遺伝子解析を鋭意遂行し、その臨床病理学的特徴と遺伝子変異の照合を行ってきた。より細やかなPersonalized Medicineへ繋ぐためにもEpigenetic変異を加味する必要がある。Epigenetic変異を基盤とした革新的新規治療戦略の構築が重要であり、そこで大腸癌の予後や薬剤効果に寄与するO6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) やMSH2メチル化を子宮体癌で検討し、MGMT発現率は0.8%、MSH2メチル化は2.4%であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体癌と大腸癌はいずれも疾患に多くリンチ症候群が含まれ、メチル化が深く関わっている。大腸癌の予後や薬剤効果に寄与するBiomarkerの1つであるMGMTに注目し、子宮体癌での検討を行った。MGMTはDNA修復酵素であり、アルキル化剤による殺細胞作用を阻害する。このMGMT活性はそのpromoter領域のメチル化によって制御されていることが知られ、そこで我々はMGMT発現に対し研究を子宮体癌で行ったが子宮体癌では患者122症例中唯一1例のみであり、また他メチル化のMSH2メチル化も2.4%と子宮体癌は大腸癌と比較して、子宮体癌は大腸癌ほどメチル化に深く関わっていないことを認めた。

研究成果の概要(英文)：We examined clinic-pathological features with gene mutations for endometrial cancer. To do better research of innovative new therapeutic strategies, it is important that we study with personalized Medicine inclusive epigenetic mutations. We examined O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT), and MSH2 methylation, which contributes to the prognosis and drug effects of colorectal cancer. In endometrial cancer, the expression of MGMT and MSH2 methylation were 0.8 and 2.4%.

研究分野：婦人科

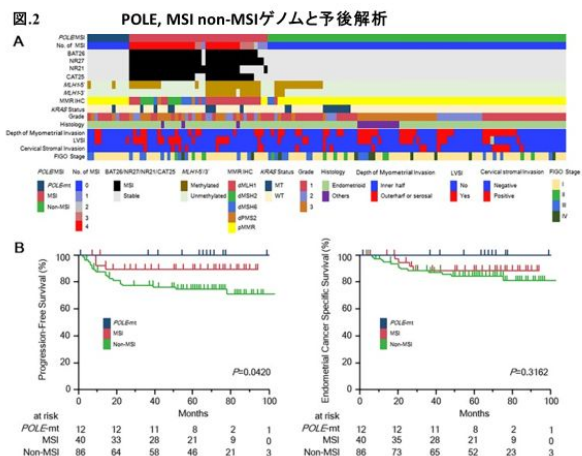
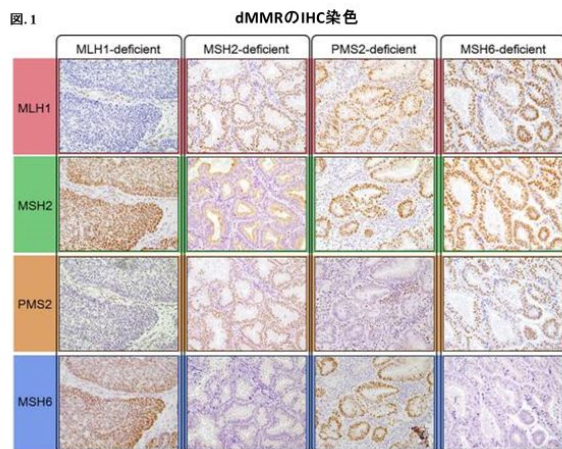
キーワード：子宮体癌 Epigenetic変異 MGMT MSH2メチル化

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

1. 研究開始当初の背景

**近年ゲノム医療は目覚ましい発展をとげ、従来から行われている治療法(抗癌剤等)に加え、遺伝子解析で得られた結果により分子標的治療が使用されるようになってきた。しかしながら婦人科癌においては、卵巣癌・子宮頸癌にペバシツマブ、卵巣癌にオラパリブが使われるようになってきたが、子宮体癌においては未だ有効な分子標的薬は見つかっていない。**

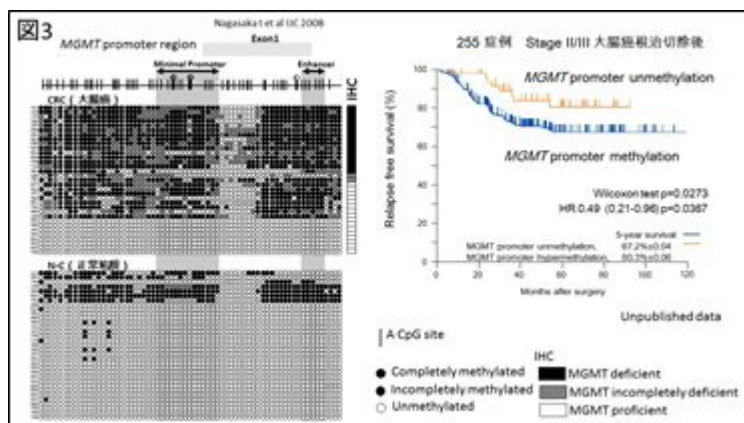
子宮体癌においては総合的ゲノム特性解析結果が The Cancer Genome Atlas (TCGA) から発表され (The Cancer Genome Atlas Research Network. Nature. 2013), 我々は以前より子宮体癌が Lynch 症候群関連腫瘍に含まれることに着目し、遺伝子変異情報を基盤とした子宮体癌に対する遺伝子変異解析を随時進めてきた。Lynch 症候群の原因はミスマッチ修復タンパク (mismatch repair protein, MMR) の欠損により引き起こされるマイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability, MSI) があり, MSI を引き起こす原因となる dMMR (MLH1/MSH2/MSH6/PMS2) 発現を 4 つのモノヌクレオチドマーカ (BAT26, NR21, NR27, and CAT25) や dMMR 免疫組織法 (immunohistochemistry, IHC) を用いて検討してきた。また MLH1 プロモーター領域のメチル化や DNA 複製・修復に関与する蛋白複合体の一つである DNA ポリメラーゼ をコードする POLE 遺伝子(その中の exon9 と 13 での遺伝子変異)についても検討した。その結果、**子宮体癌 138 例中、12 例(8.7%)に POLE 変異、40 例 (29.0%) に MSI**



**を認め, MSI と dMMR は 92.7% ほぼ一致して**

**いた。POLE 変異群は類内膜癌で予後不良である endometrioid carcinoma Grade 3 を 2 例含んだが、全例再発なく良好な予後を示した。また MSI (dMMR) は再発や遠隔転移リスクを減らし、エピジェネティックな異常による MSI は予後良好であることが示された (Haruma T, Nagasaka T, Nakamura K, et al. Plos one 2018) (図 1, 2)。**

**POLE 変異, MSI, p53 の組み合わせが子宮体癌の予後を予測する有効な Biomarker になることや, POLE 変異や MSI 陽性症例には免疫チェックポイント阻害薬(抗 PD-1 抗体, 抗 PD-L1 抗体)が有効な治療法に成りうることは知られているが, MSI の陰性例や P53 陽性例患者の有効な治療法は未だ発見されていない。そこで我々はゲノム変異だけでなく, エピジェネティクス変異も加味した治療法の必要があると考え, 大腸癌において予後**



や薬剤効果に寄与する Biomarker の1つである 06-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) に注目した。MGMT は DNA 修復酵素であり、アルキル化剤による殺細胞作用を阻害し、promoter 領域のメチル化によって制御されていることが知られている (図3)。

その臨床病理学的特徴として、MGMT メチル化を示す大腸癌群は、i) 予後良好な傾向 ii) Stage I/II に多く認められる iii) フッ化ピリミジン系抗がん剤の薬剤効果に關与すること等が挙げられる。MGMT メチル化は悪性膠芽腫において Temozolomide の効果を Positive に予測する Biomarker であることも報告され、脳腫瘍分野での臨床応用が検討されている。そこで 子宮体癌においても MGMT メチル化を示す癌が大腸癌、悪性膠芽腫と同様に 06BG が子宮体癌に対しての新しい治療薬になる可能性があると思われた。

## 2. 研究の目的

遺伝子変異情報だけにより構成される Precision Medicine には限界があると考えており、Precision Medicine からより細やかな Personalized Medicine へ繋ぐためには遺伝子変異だけでなく、Epigenetic 変異も加味する必要があり、MHL1/MSH2/MGMT promoter methylation という Epigenetic 変異を測定し、その Epigenetic 変異を用いて TCGA にて示された4つの子宮内膜癌サブタイプをさらに細分化を行い、臨床病理学的特徴の検討を行うことを目的に研究を行った。

## 3. 研究の方法

子宮内膜癌 200 例を収集し、MSI, KRAS, PIK3CA, POLE, PIK3R1 解析を行うことに加え、MHL1/MSH2/MGMT promoter 領域を中心にメチル化解析を行い、予後・再発・薬剤感受性・臨床病理結果との比較検討を行った。特に MGMT methylation は MGMT promoter の発現に關与するとされる minimal promoter 領域と Enhancer 領域の2領域に対し、MGMT 免疫染色 (IHC) を全症例に行い、methylation pattern と MGMT 発現や予後との詳細な解析を施行した。より広くデータを収集するために TruSight™ One Sequencing Panel 解析を行い、MMR 遺伝子すべて解析し、EpCAM deletion に対しては、MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法による解析も追加検討した。

## 4. 研究成果

子宮体癌と大腸癌はいずれも疾患に多くリンチ症候群が含まれ、メチル化が深く関わっている。大腸癌の予後や薬剤効果に寄与する Biomarker の1つである MGMT に注目し、子宮体癌での検討を行った。MGMT 活性はその promoter 領域のメチル化によって制御されていることが知られ、そこで我々は MGMT 発現に対し研究を子宮体癌で行ったが、子宮体癌では患者 122 症例中唯一 1 例 (0.8%) であり、MSH2 メチル化は患者 326 例症例中 8 例 (2.4%) であった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

Sarcopenia is an important prognostic factor in patients with cervical cancer undergoing concurrent chemoradiotherapy. Kiyotoki T, Nakamura K, Haraga J,

Omichi C, Ida N, Saijo M, Nishida T, Kusumoto T, Masuyama H. *Int J Gynecol Cancer* 28(1):168-175,2018. 査読有

Prognostic nutritional index as a predictor of survival in patients with recurrent cervical cancer. Ida N, Nakamura K, Saijo M, Kusumoto T, Masuyama H. *Mol Clin Oncol*. 8(2):257-263,2018. 査読有

Accuracy of four mononucleotide-repeat markers for the identification of DNA mismatch-repair deficiency in solid tumors. Takehara Y, Nagasaka T, Nyuya A, Haruma T, Haraga J, Mori Y, Nakamura K, Fujiwara T, Boland CR, Goel A. *J Transl Med*. 16(1):5,2018. 査読有

Clinical impact of endometrial cancer stratified by genetic mutational profiles, POLE mutation, and microsatellite instability. Haruma T, Nagasaka T, Nakamura K, Haraga J, Nyuya A, Nishida T, Goel A, Masuyama H, Hiramatsu Y. *PLoS One* 13(4):e0195655,2018. 査読有

Clinical outcomes of women with ovarian metastases of colorectal cancer treated with oophorectomy with respect to their somatic mutation profiles. Mori Y, Nyuya A, Yasui K, Toshima T, Kawai T, Taniguchi F, Kimura K, Inada R, Nishizaki M, Haraga J, Nakamura K, Umeda Y, Kishimoto H, Fujiwara T, Katata Y, Yamaguchi Y, Nagasaka T. *Oncotarget* 9(23):16477-16488,2018. 査読有

The influence of chemotherapy-induced peripheral neuropathy on quality of life of gynecologic cancer survivors. Matsuoka H, Nakamura K, Matsubara Y, Ida N, Saijo M, Ogawa C, Masuyama H. *Int J Gynecol Cancer*. 28(7):1394-1402, 2018. 査読有

Radical Hysterectomy Plus Concurrent Chemoradiation/Radiation Therapy Is Negatively Associated With Return to Work in Patients With Cervical Cancer. Nakamura K, Masuyama H, Ida N, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. *Int J Gynecol Cancer* 27(1):117-122,2017. 査読有

Glasgow prognostic score is a prognosis predictor for patients with endometrial cancer. Saijo M, Nakamura K, Masuyama H, Ida N, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 210:355-359,2017. 査読有

The influence of adverse effects on quality of life of survivors of gynecologic cancer. Omichi C, Nakamura K, Haraga J, Ida N, Saijo M, Nishida T, Kusumoto T, Masuyama H. *Int J Gynecol Cancer* 27(9):2014-2019,2017. 査読有

Glasgow prognostic score is an independent marker for poor prognosis with all cases of epithelial ovarian cancer. Omichi C, Nakamura K, Haraga J, Masuyama H, Hiramatsu Y. *Cancer Med*. 5(6):1074-1080,2016. 査読有

Neutrophil to lymphocyte ratio in the pre-treatment phase of final-line chemotherapy predicts the outcome of patients with recurrent ovarian cancer. Nakamura K, Nagasaka T, Nishida T, Haruma T, Ogawa C, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. *Oncol Lett*. 11(6):3975-3981,2016. 査読有

Dimethylesculetin ameliorates maternal glucose intolerance and fetal overgrowth in high-fat diet-fed pregnant mice via constitutive androstane receptor. Masuyama H, Mitsui T, Maki J, Tani K, Nakamura K, Hiramatsu Y. Mol Cell Biochem. 419(1-2):185-192,2016. 査読有

Return to work after cancer treatment of gynecologic cancer in Japan. Nakamura K, Masuyama H, Nishida T, Haraga J, Ida N, Saijo M, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. BMC Cancer. 16:558,2016. 査読有

Inhibition of pregnane X receptor pathway contributes to the cell growth inhibition and apoptosis of anticancer agents in ovarian cancer cells. Masuyama H, Nakamura K, Nobumoto E, Hiramatsu Y. Int J Oncol. 49(3):1211-1220,2016. 査読有

Pretreatment prognostic nutritional index is a significant predictor of prognosis in patients with cervical cancer treated with concurrent chemoradiotherapy. Haraga J, Nakamura K, Omichi C, Nishida T, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Masuyama H, Katayama N, Kanazawa S, Hiramatsu Y. Mol Clin Oncol. 5(5):567-574,2016. 査読有

[学会発表](計 4 件)

Influence of adverse effects on quality of life of survivors of gynecologic cancer. Nakamura K, Ida N, Saijo M, Haraga J, Nishida T, Ogawa C, Kusumoto T, Masuyama H. 第70回日本産科婦人科学会 2018.

Return to work after cancer treatment of gynecologic cancer. Nakamura K, Masuyama H, Ida N, Omichi C, Haraga J, Nishida T, Haruma T, Kusumoto T, Seki N, Hiramatsu Y. 第69回日本産科婦人科学会 2017.

婦人科癌患者の治療後における就労状況 中村圭一郎, 依田尚之, 西條昌之, 原賀順子, 西田 傑, 春間朋子, 楠本知行, 関 典子, 増山 寿, 平松祐司 第58回日本婦人科腫瘍学会 2016.

婦人科癌患者の治療後における就労生活の現状 中村圭一郎, 西田 傑, 原賀順子, 大道千晶, 春間朋子, 小川千加子, 楠本知行, 関 典子, 増山 寿, 平松祐司 第68回日本産科婦人科学会 2016.

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：永坂 岳司

ローマ字氏名：Takeshi Nagasaka

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：30452569

研究分担者氏名：春間 朋子

ローマ字氏名：Tomoko Haruma

所属研究機関名：岡山大学

部局名：大学病院

職名：助教

削除 2017 年 1 月 6 日

研究者番号 (8 桁): 60751774

研究分担者氏名：平松 祐司

ローマ字氏名：Yuji Hiramatsu

所属研究機関名：岡山大学

部局名：医歯薬学総合研究科

職名：特任教授

研究者番号 (8 桁): 80218817

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。