

令和元年5月31日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21330

研究課題名(和文) 子宮体癌におけるDNA傷害修復経路を標的とした新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of therapeutics targeting DNA damage repair pathway in uterine neoplasms

研究代表者

宮坂 亜希 (Miyasaka, Aki)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：10754997

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：子宮体部腫瘍の中でも子宮肉腫は稀少性・多様性を併せ持つ腫瘍であり、その発生病態は不明な点が多く、化学療法奏効率が低く予後不良な疾患である。そこで遺伝子パネル検査を行い、肉腫においての分子プロファイリングを検証し、治療ターゲットとなりうる遺伝情報検討することとした。遺伝子パネル検査とは、「次世代」と呼ばれるシーケンサーを用いて一度に約500種類の遺伝子の変異を網羅的に解析できる検査法である。見つかった変異が臨床的に意義のあるものなのかを知識データベースで選別したところ、子宮肉腫にもPARP阻害薬のようなDNA障害修復経路を標的とした治療法が効果を発する可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮肉腫は稀少であり、その病理病態が未解明な腫瘍である。治療法は確立されておらず、予後も不良である。肉腫の診断及び新規治療の開発に関して、治療法の開発は急務である。全エクソンシーケンス・全ゲノムシーケンス・RNA-Seq等を個別の症例において適宜行うことにより、ドライバー変異や治療標的になりうる体細胞変異の検索を行うことが可能である。個々の症例の蓄積が、稀少疾患に最適なクリニカルシーケンス検査の構築や新規治療の開発につながる。その導入としての今回の研究は学術的、および社会的にも有意義であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Uterine sarcomas are rare malignant uterine neoplasms. Their rarity and histopathological diversity have contributed to the lack of consensus on risk factors for poor outcome and optimal treatment. Genome sequencing is a comprehensive method for analyzing entire genomes, which is a powerful tool for elucidating pathological conditions and developing treatments. "Onco-panel for gene profiling" is a sequencing that can comprehensively analyze about mutations of five hundred at a time using a next-generation sequencing. Whether the found mutations were clinically significant was judged from the gene database. It has been suggested that treatment targeting the DNA damage repair pathway such as PARP inhibitor may be effective for uterine sarcoma.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮腫瘍 クリニカルシーケンス 相同組換え修復 PARP阻害薬

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

### 1. 研究開始当初の背景

2004年にEGFR遺伝子変異がEGFR阻害薬である gefitinib の感受性を規定することが明らかにされたことにより、がんの遺伝子変異が治療の標的になることが判明し、その後に Philadelphia 染色体由来の BCR-ABL を標的とした阻害剤 imatinib や、ALK や ROS1 等の融合遺伝子を標的とする阻害剤の開発が相次いだ。今日がんにおける遺伝子変異は治療薬を決定する上で欠くことの出来ないものとなりつつある。一方で、近年のシーケンス技術の一般化・低コスト化によりがん診療は大きく変貌を遂げようとしている。網羅的解析で明らかにされた体細胞変異プロファイルは固形がんが多様性に富み、症例ユニークな変異の関連付けによる診断面の利点のみならず、複数の治療標的分子の変異を短時間で同定することが可能となった。海外では MSK-IMPACT を始め、シーケンス技術を利用した網羅的遺伝子パネル検査、いわゆるクリニカルシーケンスが臨床導入され、国内でもその機運が高まっている。

子宮体部腫瘍の中でも子宮体癌は現在先進国の女性の生殖器癌の中で最も罹患率が高く、未経産や肥満などのリスク人口の増加に伴い、罹患者数も年々増加している。低リスク群でも 10-15% の症例で再発し、再発局所病変に対して、放射線治療が多く選択される。放射線照射は DNA 傷害を起こすが、PARP 阻害剤のように DNA 傷害を蓄積させる分子標的薬も近年開発が進んでいる。また子宮体部腫瘍である子宮肉腫は稀少性・多様性を併せ持つ腫瘍であり、その発生病態は不明な点が多い。治療も確立されておらず、その予後は不良である。

以上より、子宮体部腫瘍の予後改善を図る上で、生物学的特性をふまえた個別化医療の確立と、DNA 傷害経路を利用した新規治療法の開発が急務である。クリニカルシーケンスにより診断・治療に有用な体細胞変異・融合遺伝子が検出され、有効な保険承認薬・治験薬・FDA 承認薬の情報が多数得られる可能性がある。

### 2. 研究の目的

婦人科領域での特性や課題を解決し、婦人科悪性腫瘍診療に最適な検査の開発、特に再発子宮体癌や子宮肉腫などの稀少がんについてそのがん原性を明らかにすることにより診断バイオマーカー・新規治療開発を行う。

子宮体部腫瘍における生物学的特性をもとに、予後予測・治療感受性バイオマーカーを解明し、DNA 傷害に着目した新規の分子標的治療法を確立する。

### 3. 研究の方法

遺伝子パネル検査とは、手術や生検検体から、「次世代」と呼ばれるシーケンサーを用いて一度に数百種類のがん関連遺伝子を網羅的に解析できる検査法であり、がん領域では、その患者の発がんに重要な役割を担う遺伝子や、効果の期待できる分子標的薬剤の選択などに有用とされている。「Today OncoPanel」では、約 500 種類の遺伝子の変異を、一度の解析で明らかにすることが可能である。提出した検体をシーケンスにかけた後に情報処理を行い、見つかった変異が臨床的に意義のあるものなのかを知識データベースで選別を行う。その後約 2 週間で最終的な結果が報告される。TOP により子宮肉腫症例 9 例(平滑筋肉腫 3 例、腺肉腫 2 例、高悪性度子宮間質肉腫 2 例、未分化子宮肉腫 1 例、癌肉腫 1 例)の解析を行った。ホルマリオン固定パラフィン切片 (FFPE) から DNA/RNA を抽出し、末梢血単核球からのものと比較して、患者固有の遺伝子多型を除外した体細胞変異ならびに異常転写産物を検出した。検出された遺伝子変異は、公共の知識データベースにより臨床的意義付け、薬剤対応情報の評価を行った。

### 4. 研究成果

( 1 ) 症例詳細

| 症例 | stage | 組織型                              | Tier | 非同義体細胞変異, 融合遺伝子                               | 生殖細胞系列変異 | 増幅/欠失                               |
|----|-------|----------------------------------|------|---|----------|-------------------------------------|
| 1  | 1b    | adenosarcoma                     | 4    | CDC73   |          |                                     |
| 2  | 1b    | adenosarcoma                     | 4    | MED12 ほか<br>RAD51                             |          |                                     |
| 3  | 1b    | HG-ESS                           | —    |   |          |                                     |
| 4  | 4b    | leiomyosarcoma                   | 3    | RB1   |          | 2q, 11q, ほか LOH                     |
| 5  | 1b    | leiomyosarcoma                   | —    |   |          | BRCA 遺伝子ほか<br>(homozygous deletion) |
| 6  | 1b    | leiomyosarcoma                   | —    | H3F3C   | MMR 遺伝子  |                                     |
| 7  | 1b    | HG-ESS                           | 3    | JAK1, KRAS, PPP2R1A, TP53, new fusion gene: Y |          | MYCN(amplification)                 |
| 8  | 1b    | Undifferentiated uterine sarcoma | 4    | TP53, RAD51                                   |          |                                     |
| 9  | 1a    | carcinosarcoma                   | 4    | TP53, FBXBW7, new fusion gene: Z              | BRCA 遺伝子 | MYC(amplification)                  |

( 2 ) Annotation と遺伝子変異

検出された変異の pathogenicity を 5 段階の Tier に分類. Tier 1 と Tier 2 を治療ターゲットとしている.

・Tier と治療ターゲット

- ・ Tier1: 国内で薬事承認されている薬剤の標的とする変異
- ・ Tier2: 「国内治験薬」, 「FDA 承認薬」, 「異なるがん腫において国内で薬事登録されている薬剤」の標的とする変異
- ・ Tier3: 公共データベース上に登録のあるがん化変異および薬剤感受性変異
- ・ Tier4: 論文に報告のあるがん関連変異
- ・ Tier5: 公共データベースに高頻度に登録のある変異

全 9 症例中 6 症例について, oncogenic な遺伝情報が得られたが, 3 症例は annotation (注釈) がつかなかった。

婦人科上皮性悪性腫瘍については, 約 60% の症例で targetable な遺伝情報が得られている一方で, 子宮肉腫では, 治療に結びつく Tier 1 あるいは Tier 2 が認められなかった。

( 3 ) 相同組換え遺伝子異常

全 9 症例中, 4 症例において, 相同組換え修復異常 (homologous recombination deficiencies; HRD) を認めた

< 症例 5 >

- ・ 相同組換え修復異常を示す遺伝子 X において染色コピー数異常が検出された。

< 症例 9 >

相同組換え修復遺伝子 Y の生殖細胞変異が認められた。病的変異であるかはデータベース上 conflicting であるが, HRD との関係性は否定できない。

< 症例 2.8 >

2 症例(Case #2, Case #8)で, 同一の非同義体細胞変異 RAD51 に関連する遺伝子の変異が認め

られた。

相同組換え修復(homologous recombinational repair; HRD)に関係することが知られており、フレームシフト変位であった。

#### (4) 融合遺伝子

近二倍体核型を持つ肉腫において、転座によって形成された種々の融合遺伝子が同定されている。転座に関連する融合遺伝子を有する大部分の肉腫は転写調節異常を呈する。

・症例7は当初、uterine undifferentiated sarcomaと診断されていたが、融合遺伝子Yが検出されたことから、HG-ESSと診断が修正された。

・症例9(carcinosarcoma)では、新規融合遺伝子Zが検出された。

・症例3(HG-ESS)では、oncogenicな体細胞変異/生殖細胞変異は全く認められなかったが、RNAseqの施行により候補となる融合遺伝子を検出した。

#### (5) DCD73と腺肉腫

CDC73は、転写調節に関わる腫瘍抑制性の因子であり、種々の癌種で低頻度で変異を認めるが、子宮肉腫が最も高頻度である。

腺肉腫の2症例(症例1、2)で、CDC73の非同義体細胞変異が認められたCDC73の変異は、腺肉腫を含め子宮肉腫との関連が指摘されており、本症例でもCDC73変異が関連していることが示唆される。

子宮肉腫においてもクリニカルシーケンスにより診断・治療に有効な体細胞変異・融合遺伝子の検出が可能であることが示され、高頻度で相同組換え修復異常が検出されたことは、子宮肉腫において白金製剤やPARP阻害剤が有効であることが示唆される。

がん原性となる体細胞/生殖細胞系列変異が全く検出されない症例も癌腫に比して多いという課題も明らかにされた。

## 5. 主な発論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

Kukita A, Sone K, Oda K, Hamamoto R, Kaneko S, Komatsu M, Wada M, Honjoh H, Kawata Y, Kojima M, Oki S, Sato M, Asada K, Taguchi A, Miyasaka A, Tanikawa M, Nagasaka K, Matsumoto Y, Wada-Hiraike O, Osuga Y, Fujii T. ADP ribose polymerase inhibitor has therapeutic potential against high-grade serous ovarian carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019 May 28;513(2):340-346. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.03.155. 査読有

Chuwa AH, Sone K, Oda K, Tanikawa M, Kukita A, Kojima M, Oki S, Fukuda T, Takeuchi M, Miyasaka A, Kashiya T, Ikeda Y, Nagasaka K, Mori-Uchino M, Matsumoto Y, Wada-Hiraike O, Kuramoto H, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Kaempferol, a natural dietary flavonoid, suppresses 17β-estradiol-induced survivin expression and causes apoptotic cell death in endometrial cancer. *Oncol Lett.* 2018 Nov;16(5):6195-6201. doi: 10.3892/ol.2018.9340. 査読有

Nishikawa T, Matsumoto K, Tamura K, Yoshida H, Imai Y, Miyasaka A, Onoe T, Yamaguchi S, Shimizu C, Yonemori K, Shimoi T, Yunokawa M, Xiong H, Nuthalapati S,

Hashiba H, Kiriya T, Leahy T, Komarnitsky P, Fujiwara K. Phase 1 dose-escalation study of single-agent veliparib in Japanese patients with advanced solid tumors. *Cancer Sci.* 2017 Sep;108(9):1834-1842. doi: 10.1111/cas.13307. 査読有  
Oki S, Sone K, Oda K, Hamamoto R, Ikemura M, Maeda D, Takeuchi M, Tanikawa M, Mori-Uchino M, Nagasaka K, Miyasaka A, Kashiyama T, Ikeda Y, Arimoto T, Kuramoto H, Wada-Hiraike O, Kawana K, Fukayama M, Osuga Y, Fujii T. Oncogenic histone methyltransferase EZH2: A novel prognostic marker with therapeutic potential in endometrial cancer. *Oncotarget.* 2017 Jun 20;8(25):40402-40411. doi: 10.18632/oncotarget.16316. 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Asako Kukita A histone methyltransferase SMYD2 selective inhibitor (LLY-507) in combination with a PARP inhibitor (Olaparib) have a therapeutic potential for high-grade serous ovarian carcinomas 第 71 回 産科婦人科学会学術集会 2019 年
2. Hirofumi Inaba Clinical sequencing by Todai OncoPanel (TOP) for uterine sarcomas 第 71 回 産科婦人科学会学術集会 2019 年
3. 稲葉洋文:「クリニカルシーケンス(Todai OncoPanel;TOP)を施行した子宮肉腫 9 例の検討」 第 7 回婦人科がんバイオマーカー研究会 2019 年
4. Haruki Honjo Transcription factor, MED1 is a novel binding partner of BRCA1 and guards genome stability International Gynecologic Cancer Society 2018 年
5. Haruki Honjo Transcription factors are novel binding partners of BRCA1 and regulate homologous recombination 癌学会 2018 年

〔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 : なし

## 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。