

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16837

研究課題名(和文)子宮内膜症発症及び癌化におけるIL1Aの意義

研究課題名(英文)Significance of IL1A variants in endometriosis

研究代表者

安達 聡介(Adachi, Sosuke)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：50613147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：これまでにゲノムワイド相関解析により、IL1Aは子宮内膜症のなりやすさに関連していることを明らかにしたが、今回IL1Aに注目し子宮内膜症における病態を解明することを目的とした。子宮内膜症13症例、正常子宮内膜症11症例に対して、子宮内膜症上皮および正常子宮内膜上皮をレーザーマイクロダイセクションでサンプリング後、全エクソンシーケンス解析を施行した。子宮内膜症上皮および正常子宮内膜上皮にIL1A体細胞変異を認めず、癌関連遺伝子変異を高頻度に同定した。IL1Aは疾患感受性遺伝子であり、ドライバー遺伝子ではないことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IL1Aが子宮内膜症のなりやすさに関連していることを明らかにし、また子宮内膜症と正常子宮内膜における遺伝子変異の類似性は、月経血の逆流によって子宮内膜組織が子宮外に正着し、子宮内膜症病変が形成されるという月経逆流説を支持しており、今後、子宮内膜症に対する新規治療法や予防法の開発につなげることができる。

研究成果の概要(英文)：We had previously clarified that IL1A was one of endometriosis susceptibility gene. In this study, we focused on IL1A to elucidate the pathogenesis of endometriosis. We performed whole exome sequencing for 13 endometriosis and 11 normal uterine endometrium samples. We did not find any somatic variants of IL1A in neither endometriosis nor normal uterine endometrium. However, we found frequently cancer-associated gene mutations such as PIK3CA or KRAS in both endometriosis and normal uterine endometrium. As a result, we clarified that IL1A was endometriosis susceptibility gene but not driver gene in endometriosis.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮内膜症 IL1A 癌関連遺伝子変異 月経血逆流 疾患感受性遺伝子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は、長期にわたる頑強な疼痛、不妊症、悪性腫瘍への二次的变化など、現在の女性の健康を脅かす重大な疾患の一つであり、近年増加傾向にあることから社会的にも問題となっている。本症の発症予防と有効な治療法の開発は、内膜症罹患女性の Quality Of Life (QOL) の向上や少子化の克服、さらには癌化の予防に結びつき、わが国の解決すべき重要課題として挙げられる。

本疾患は多因子疾患と考えられるが、子宮内膜症罹患者の同胞は、非罹患家系と比較して7%罹患頻度が高くなるとされ、発症者の同胞に対する相対危険度 ( $\lambda_s$ ) は 2.34、遺伝率は 51%とされている。また、双生児研究では双生児罹患者のもう一方の児において高頻度で一致して罹患を認めたとされており、さらに 339 例の内膜症患者を対象にした我々の調査結果でも過去の報告と同様、8.8%の姉妹発症を観察している (Kashima *et al. Int J Obstet Gynecol.* 84: 61, 2004)。このように、子宮内膜症の発症には遺伝的要因の関与が示唆されるが、その発症メカニズムについては依然として明らかにされていない。

2002 年から開始された国際 HapMap プロジェクト (<http://www.hapmap.org/>) により、ヒト全ゲノムにわたる一塩基多型 (SNP) と連鎖不平衡ブロックでのハプロタイプが同定された。それに伴う遺伝子タイピングプラットフォームの発展もあり、マーカーとなる約 100 万の SNP を全ゲノム上に配置して網羅的かつ効率的に関連解析を行う手法：全ゲノム関連解析 (Genome-wide association study: GWAS) が可能となっており、冠動脈疾患、2 型糖尿病など多くの疾患で GWAS が行われ、疾患感受性遺伝子が同定されている。

申請者は、日本人集団における子宮内膜症の疾患感受性に寄与する遺伝的因子を同定するため、GWAS を実施してきた (研究業績 15. *J Hum Genet* 2010)。GWAS により得られた上位 5SNP のうち 4SNP は 2q13 領域の *IL1A* 内もしくは近傍に存在し、同一の連鎖不平衡ブロック内に位置しており、サンガーシーケンス法を用いて *IL1A* 遺伝子の一塩基多様性を再検証することにより (研究業績 10. *J Hum Genet* 2013)、*IL1A* 遺伝子を子宮内膜症疾患感受性遺伝子として同定することに成功している。

*IL1A* にコードされるインターロイキン-1 $\alpha$  は炎症性サイトカインの一種であり、免疫反応、炎症、造血などに関与している。子宮内膜症において、子宮内膜症罹患者の腹水あるいは血清中のインターロイキン-1 $\alpha$  濃度が内膜症非罹患者に比し、有意に高いとする報告があり (Kondera-Anasz *et al. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005)、インターロイキン-1 $\alpha$  と子宮内膜症との関連は示唆されているが、インターロイキン-1 $\alpha$  の子宮内膜症における分子生物学的意義については不明なままである。

また、子宮内膜症性卵巣嚢胞の 0.5-1.0% が卵巣癌に移行するとされ、わが国での前方視的疫学調査では、0.72% の頻度で癌化をきたすことが明らかとなった (Kobayashi *et al. Int J Gynecol Cancer* 2007)。近年次世代シーケンサーの普及により網羅的遺伝子変異解析を用いた癌発症機序の解明が可能になり、内膜症関連卵巣癌 (特に明細胞癌) では、*ARID1A* や *PIK3CA* などの遺伝子変異が高頻度に報告されている (Jones *et al. Science* 2010; Wiegand *et al. NEJM* 2010; Chandler *et al. Nat Commun* 2015)。ただし、内膜症上皮・異型内膜症あるいは内膜症-癌移行部及び癌上皮という一連の進展プロセスを考えた場合、内膜症関連卵巣癌の網羅的遺伝子変異解析の結果だけでは原因解明には不十分である。一方、卵巣癌を対象とした GWAS 研究において、内膜症関連卵巣癌群では対照群に比し、*IL1A* 遺伝子上の内膜症マーカー SNP のリスクアレル頻度が有意に高いと報告されており (White *et al. Cancer Res* 2012; Charbonneau *et al. Cancer Res* 2014)、*IL1A* 遺伝子が内膜症発症だけでなく、癌化にも関与している可能性が示唆されている。

### 図 1. マンハットプロット

横軸が染色体上の SNP の位置、縦軸が子宮内膜症と SNP との関連性を示す。

### 2. 研究の目的

本研究では内膜症疾患感受性遺伝子である *IL1A* に注目し、子宮内膜症の病態および癌化メカニズムを解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

新潟大学遺伝子倫理委員会の承認のもと、研究同意の得られた患者の手術検体から組織を採取した。まず子宮内膜症 13 症例から子宮内膜症組織を 13 サンプル、婦人科良性疾患 11 症例における摘出子宮から子宮内膜組織を 11 サンプル採取した。両組織とも凍結切片からレーザーマイクロダイセクションを用いて上皮のみを選択的に採取し、DNA を抽出した。コントロールとして同一患者の血液から得た DNA を用いて全エクソンシーケンスを行い、体細胞変異を同定した。次に同一症例内におけるマルチサンプリングも行い、子宮内膜症 43 例から子宮内膜症組織を 94 サンプル、また婦人科良性疾患 27 例の摘出子宮から正常子宮内膜を 71 サンプル採取した。全エクソンシーケンスと同様、両組織の上皮と血液由来の DNA を用いてターゲットシーケンスを行い、体細胞変異を同定した。ターゲットシーケンスでは全エクソンシーケンスの結果と、過去に行われた子宮内膜症関連卵巣癌や子宮内膜癌の遺伝子解析研究を参考にして作成した遺伝子パネル (84 遺伝子) を用いた。

#### 4. 研究成果

全エクソンシーケンスの結果、子宮内膜症と正常子宮内膜の両組織において *IL1A* に体細胞変異を認めなかった(図1)。一方、*KRAS*、*PIK3CA*、*FBXW7*、*PPP2R1A*、*PIK3R1* といった癌関連遺伝子で高頻度に体細胞変異を認めた。特に、*KRAS* と *PIK3CA* における遺伝子変異の頻度が高く、子宮内膜症上皮で *KRAS* 変異が 62% (8/13)、子宮内膜上皮で *PIK3CA* 変異が 64% (7/11) という結果であった。子宮内膜症上皮と正常子宮内膜で認められた遺伝子変異には類似性を認めたが、変異アリル頻度 (mutant allele frequency: MAF) は有意に子宮内膜症上皮で高い結果であった。また子宮内膜症上皮における癌関連遺伝子変異の MAF は、同一サンプル内の他の遺伝子変異の MAF と比較し上位に位置しており、癌関連遺伝子変異がクローナルな細胞増殖に寄与していることが示唆された。一方正常子宮内膜上皮においても複数の癌関連遺伝子変異を認めたが、それぞれの MAF は低く、サブクローナル変異であった。子宮内膜症上皮で特に MAF が高かったサンプルでは、*KRAS* が位置する 12 番染色体短腕で正常アレルの大規模な欠失が起きている (loss of heterozygosity: LOH) ことを明らかにした。独立した両組織のサンプルセットを用いてターゲットシーケンスを行った結果(図2)、やはり *IL1A* に体細胞変異を認めなかったが、*KRAS* と *PIK3CA* などの癌関連遺伝子に高頻度で変異を認めた。全エクソンシーケンス結果と同様、遺伝子変異の MAF は有意に子宮内膜症上皮で高く、癌遺伝子における遺伝子変異が子宮内膜症上皮の増殖におけるドライバー因子であることが示唆された。同一症例内におけるマルチサンプリングによる解析の結果、子宮内膜症ではサンプル間で共通する MAF の高い遺伝子変異の存在から空間的なクローン性増殖が示唆されたが、正常子宮内膜のサンプル間で遺伝子変異プロファイルに共通性を認めなかった。

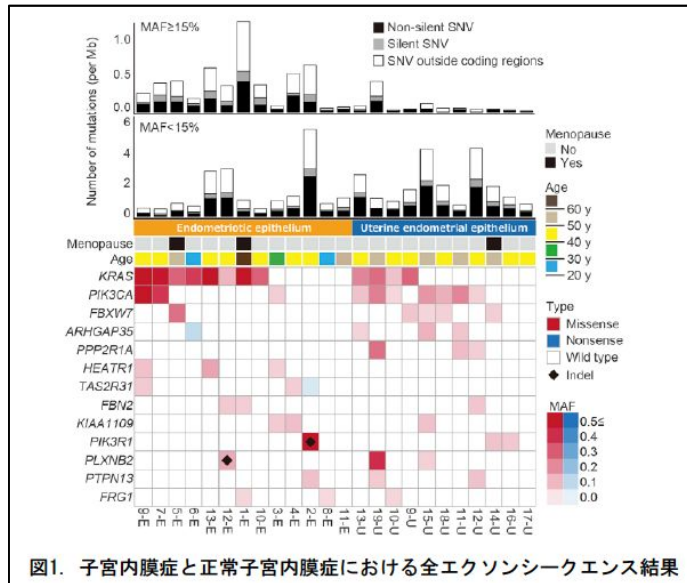


図1. 子宮内膜症と正常子宮内膜における全エクソンシーケンス結果

子宮内膜症および正常子宮内膜における遺伝子変異の類似性は、月経血の逆流によって子宮内膜組織が子宮外に正着し、子宮内膜症病変が形成されるという月経逆流説を支持する結果であった。また子宮内膜症における癌遺伝子変異は高い MAF を保持しており、異所における子宮内膜の生着・生存に寄与しているものと考えられた。

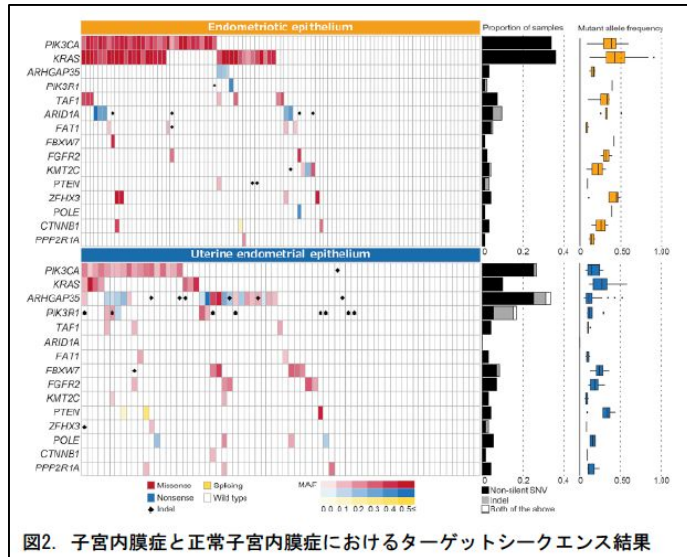


図2. 子宮内膜症と正常子宮内膜におけるターゲットシーケンス結果

子宮内膜症および正常子宮内膜における遺伝子変異の類似性は、月経血の逆流によって子宮内膜組織が子宮外に正着し、子宮内膜症病変が形成されるという月経逆流説を支持する結果であった。また子宮内膜症における癌遺伝子変異は高い MAF を保持しており、異所における子宮内膜の生着・生存に寄与しているものと考えられた。

子宮内膜症および正常子宮内膜における遺伝子変異の類似性は、月経血の逆流によって子宮内膜組織が子宮外に正着し、子宮内膜症病変が形成されるという月経逆流説を支持する結果であった。また子宮内膜症における癌遺伝子変異は高い MAF を保持しており、異所における子宮内膜の生着・生存に寄与しているものと考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sapkota Y, Steinhorsdottir V, Morris AP, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Meta-analysis identifies five novel loci associated with endometriosis highlighting key genes involved in hormone metabolism	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 15539 ~ 15539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/ncomms15539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sugino Kentaro, Tamura Ryo, Nakaoka Hirofumi, Yachida Nozomi, Yamaguchi Manako, Mori Yutaro, Yamawaki Kaoru, Suda Kazuaki, Ishiguro Tatsuya, Adachi Sosuke, Isobe Masanori, Yamaguchi Masayuki, Kashima Katsunori, Motoyama Teiichi, Inoue Ituro, Yoshihara Kosuke, Enomoto Takayuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Germline and somatic mutations of homologous recombination-associated genes in Japanese ovarian cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-54116-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Suda Kazuaki, Nakaoka Hirofumi, Yoshihara Kosuke, Ishiguro Tatsuya, Adachi Sosuke, Kase Hiroaki, Motoyama Teiichi, Inoue Ituro, Enomoto Takayuki	4. 巻 34
2. 論文標題 Different mutation profiles between epithelium and stroma in endometriosis and normal endometrium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Reproduction	6. 最初と最後の頁 1899 ~ 1905
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/humrep/dez155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuo Koji, ..., Adachi Sosuke, et al.	4. 巻 155
2. 論文標題 Recurrence, death, and secondary malignancy after ovarian conservation for young women with early-stage low-grade endometrial cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 39 ~ 50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygyno.2019.08.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, ..., Adachi Sosuke, et al.	4. 巻 29
2. 論文標題 Tumor characteristics and outcome of uterine carcinosarcoma in women aged ≥80 years	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 25 ~ 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2019.02.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, ..., Adachi Sosuke, et al.	4. 巻 152
2. 論文標題 Association of statins, aspirin, and venous thromboembolism in women with endometrial cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 605 ~ 611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygyno.2018.12.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kudo Risa, Yamaguchi Manako, Sekine Masayuki, Adachi Sosuke, Ueda Yutaka, Miyagi Etsuko, Hara Megumi, Hanley Sharon J B, Enomoto Takayuki	4. 巻 219
2. 論文標題 Bivalent Human Papillomavirus Vaccine Effectiveness in a Japanese Population: High Vaccine-Type Specific Effectiveness and Evidence of Cross-Protection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 382 ~ 390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jiy516	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitani Yohei, Ishiguro Tatsuya, Kobayashi Akiko, Tamura Ryo, Ueda Haruka, Adachi Sosuke, Nishikawa Nobumichi, Sekine Masayuki, Enomoto Takayuki	4. 巻 45
2. 論文標題 Ectopic pregnancy following oral levonorgestrel emergency contraception use	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 473 ~ 476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.13815	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, ..., Adachi Sosuke, et al.	4. 巻 27
2. 論文標題 Characterizing sarcoma dominance pattern in uterine carcinosarcoma: Homologous versus heterologous element	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 433 ~ 440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2018.05.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, ..., Adachi Sosuke, et al.	4. 巻 29
2. 論文標題 Clinical utility of CA-125 in the management of uterine carcinosarcoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2018.29.e88	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suda Kazuaki, Nakaoka Hirofumi, Yoshihara Kosuke, Ishiguro Tatsuya, Tamura Ryo, Mori Yutaro, Yamawaki Kaoru, Adachi Sosuke, Takahashi Tomoko, Kase Hiroaki, Tanaka Kenichi, Yamamoto Tadashi, Motoyama Teiichi, Inoue Ituro, Enomoto Takayuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Clonal Expansion and Diversification of Cancer-Associated Mutations in Endometriosis and Normal Endometrium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1777 ~ 1789
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.07.037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, ..., Adachi Sosuke, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Significance of Lymphovascular Space Invasion by the Sarcomatous Component in Uterine Carcinosarcoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 2756 ~ 2766
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-018-6547-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, Yabuno Akira, Hom Marianne S., Shida Masako, Kakuda Mamoru, Adachi Sosuke, Mandelbaum Rachel S., Ueda Yutaka, Hasegawa Kosei, Enomoto Takayuki, Mikami Mikio, Roman Lynda D.	4. 巻 149
2. 論文標題 Significance of abnormal peritoneal cytology on survival of women with stage I?II endometrioid endometrial cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 301 ~ 309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygyno.2018.02.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----