

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16760

研究課題名(和文) 卵巣成熟嚢胞性奇形腫の悪性転化症例における網羅的遺伝子異常、融合遺伝子の探索

研究課題名(英文) Molecular characterization of carcinoma arising in mature cystic teratoma of the ovary

研究代表者

田村 亮 (Tamura, Ryo)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：70650620

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)：卵巣成熟嚢胞性奇形腫悪性転化症例に対して、統合オミックス解析を行い、大規模データベースと比較することで、本疾患における分子生物学的特徴を明らかにした。特に重要な点として、卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した扁平上皮癌の遺伝子発現プロファイルが肺から発生した扁平上皮癌と類似していること、また細胞障害性T細胞の活性化の過程で重要な役割を持つXCL1が本疾患で特徴的に高発現していることを明らかにした。さらに腫瘍XCL1発現が免疫チェックポイント阻害薬の奏効を予測する有力なバイオマーカーであるCD8陽性リンパ球の腫瘍浸潤および腫瘍PD-L1発現と相関があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに明らかになっていなかった卵巣成熟嚢胞性奇形腫悪性転化の分子生物学的特徴について、統合オミックス解析を用いて明らかにした。特に重要な点として、本疾患の腫瘍XCL1発現が、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を予測するバイオマーカーになる可能性が示唆されたことが挙げられる。本研究は、本疾患における免疫チェックポイント阻害薬の有効性を示唆する重要な結果であり、臨床的意義が大きいと思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed RNA-sequencing data of 2322 pan-cancer [1378 squamous cell carcinomas (SCC), 6 adenosquamous carcinomas (ASC), and 938 adenocarcinomas (AC)] including six carcinomas arising from MCT (four SCCs, one ASC, and one AC). Hierarchical clustering and principal component analysis showed that gene expression profiles of carcinomas arising from MCT were different between each histological type and that gene expression profiles of SCCs arising from MCT (MCT-SCCs) was apparently similar to those of lung SCCs. Next, we identified XCL1 was specifically overexpressed in MCT-SCCs. XCL1 expression was also significantly associated with the number of tumor-infiltrating CD8-positive T cells and PD-L1 expression on tumor cells. XCL1 expression may be a biomarker candidate for therapeutic response to an anti-PD1/PD-L1 therapy.

研究分野：産婦人科

キーワード：卵巣成熟嚢胞性奇形腫 RNAシーケンス XCL1 TP53 PIK3CA

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

卵巣成熟嚢胞性奇形腫は全卵巣腫瘍の約 10-20%程度を占める最も頻度の高い良性疾患であるが、その約 1%が悪性へ転化すると報告されている。悪性転化症例は化学療法抵抗性であり、進行症例の5年生存率が20%以下と極めて予後不良である。そのため、悪性転化の発生機序の解明と新規治療薬の開発が望まれている。悪性転化した腫瘍の多くは扁平上皮癌であるが、その発生母地についてや分子生物学的特徴に関してはほぼ未解明である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、卵巣成熟嚢胞性奇形腫の悪性転化症例における遺伝子異常・融合遺伝子を同定すること、発生母地となっている正常組織と比較することで悪性転化の原因となる遺伝子異常・融合遺伝子を同定すること、さらに同定した遺伝子異常・融合遺伝子の機能について *in vitro/vivo* で検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

国内4施設で治療が行われた、卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した悪性腫瘍27例(扁平上皮癌23例、腺扁平上皮癌3例、腺癌1例)の検体や臨床情報を収集した。解析が可能な8例(扁平上皮癌7例および腺扁平上皮癌1例)に対して、全エクソンシーケンスまたは癌関連遺伝子パネルを用いてゲノム解析を行った。さらに、6例(扁平上皮癌4例、腺扁平上皮癌1例および腺癌1例)に対しRNAシーケンスを行い、遺伝子発現解析、融合遺伝子の同定を行った。ゲノム異常および遺伝子発現プロファイルについて、Pan-Cancer Atlasに登録されていて扁平上皮癌が発生する4つの臓器(頭頸部、食道、肺、子宮頸部)に、皮膚、卵巣を加えた計6種類の癌腫(2,316例)と比較した。さらに、標的分子について24例を用いて免疫組織染色によるタンパク質発現の評価を行った。

### 4. 研究成果

#### (1)卵巣成熟嚢胞性奇形腫における遺伝子異常について

*TP53*、*PIK3CA* 遺伝子の病的変異をそれぞれ、7/8 (87.5%)、4/8例(50%)と高頻度に認められた。また、PI3K-AKT-mTOR パスウェイや、Cell cycle パスウェイに関わる遺伝子に、高頻度に病的異常を認めた。融合遺伝子解析では、8例中1例で治療標的になりうる *FGFR3-TACC3* 融合遺伝子が同定されたが、複数症例で同定されたものはなかった。また、HPV の関連が疑われる症例はなかった。

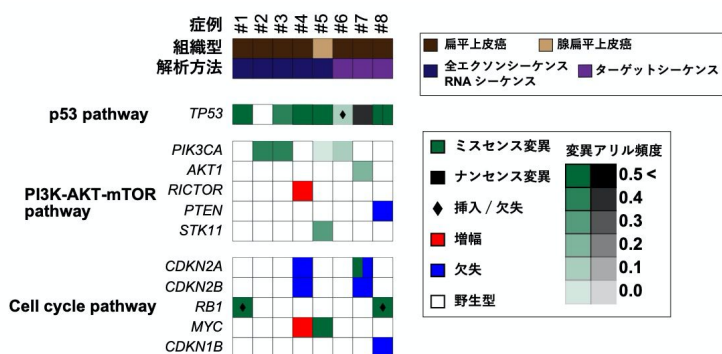


図1. 卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した癌8例の病的遺伝子異常の概要

### (2) 卵巣成熟嚢胞性奇形腫における遺伝子発現プロファイルと発生由来について

本疾患に特異的な新規遺伝子変異や融合遺伝子を同定できなかったため、当初の目的を修正した。本疾患の遺伝子発現プロファイルを明らかにするために、本疾患のRNAシーケンスデータを、他部位から発生した扁平上皮癌、腺癌症例の大規模データと比較した。その結果、卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した癌の遺伝子発現プロファイルが、組織型毎に異なることを見出した。さらに、卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した扁平上皮癌は、有力な発生母地と考えられている皮膚から発生した扁平上皮癌よりも、肺から発生した扁平上皮癌と類似した遺伝子発現プロファイルを持つことを明らかにした (図2)。

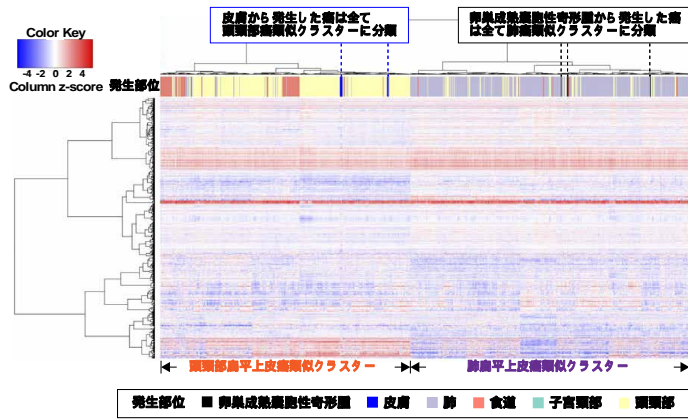


図2. 卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生したがんと肺から発生した扁平上皮癌の類似性

さらに、卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した扁平上皮癌は、有力な発生母地と考えられている皮膚から発生した扁平上皮癌よりも、肺から発生した扁平上皮癌と類似した遺伝子発現プロファイルを持つことを明らかにした (図2)。さらにサイトケラチン1、18の発現パターンや免疫染色でも皮膚由来のものとは異なる発現を示していることを確認した。

### (3) XCL1 高発現の同定とその意義について

続いて卵巣成熟嚢胞性奇形腫由来の扁平上皮癌に特徴的に高発現している遺伝子を検索し、XCL1が本疾患で特異的に高発現していることを見出した。免疫組織染色でも、本疾患にXCL1高発現例を13/24 (56%)の症例で認め、他の腫瘍や卵巣成熟嚢胞性奇形腫では、ほぼ発現症例を認めなかった。さらに腫瘍のXCL1発現は、腫瘍内CD8陽性T細胞の浸潤の程度と腫瘍細胞のPD-L1発現と有意に相関していた (図3)。

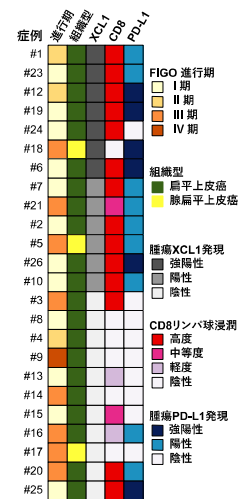


図3. XCL1発現とCD8リンパ球浸潤、腫瘍PD-L1発現の相関

### (4) 本研究から考えられる仮説と今後の課題

オミックスデータ解析を用いて、卵巣成熟嚢胞性奇形腫から発生した扁平上皮癌の分子生物学的特徴を明らかにした。本疾患の腫瘍XCL1発現は、扁平上皮癌への悪性転化および免疫チェックポイント阻害薬が奏効するバイオマーカーになる可能性が示唆された (図4)。しかし、本研究では網羅的解析を行った症例が8例と少なく、XCL1発現の違いによる遺伝子異常や遺伝子発現パターンの違いが明らかになっていないこと、利用可能な実験リソースがないため *in vitro/vivo* での検証ができていないこと、本疾患に対して抗PD1/PD-L1抗体による治療は保険適用外であり、腫瘍XCL1発現と抗PD1/PD-L1抗体の有効性について調査す

ることができないことが今後の課題として挙げられる。

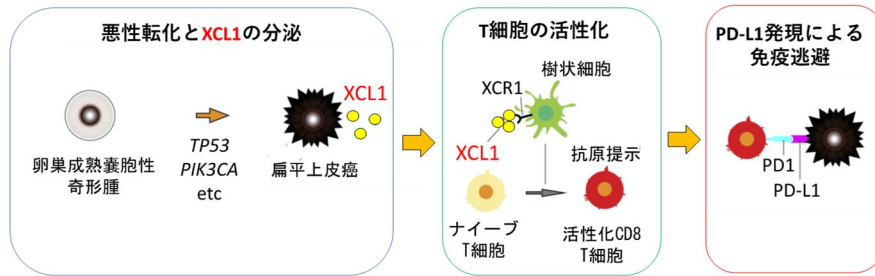


図4. 卵巣成熟嚢胞性奇形腫の悪性転化と免疫微小環境の仮説

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ryo Tamura, Kosuke Yoshihara, Hirofumi Nakaoka, Nozomi Yachida, Manako Yamaguchi, Kazuaki Suda, Tatsuya Ishiguro, Koji Nishino, Hiroshi Ichikawa, Keiichi Homma, Akira Kikuchi, Yutaka Ueda, Yuji Takei, Hiroyuki Fujiwara, Teiichi Motoyama, Shujiro Okuda, Toshifumi Wakai, Ituro Inoue & Takayuki Enomoto	4. 巻 39
2. 論文標題 XCL1 expression correlates with CD8-positive T cells infiltration and PD-L1 expression in squamous cell carcinoma arising from mature cystic teratoma of the ovary	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 3541-3554
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-020-1237-0	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村亮
2. 発表標題 卵巣成熟嚢胞性奇形腫悪性転化に対するオミックスデータ解析 ～新規治療戦略の構築を目指して～
3. 学会等名 第6回新潟産婦人科シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Tamura, Kosuke Yoshihara, Nozomi Yachida, Manako Yamaguchi, Kazuaki Suda, Tatsuya Ishiguro, Koji Nishino, Akira Kikuchi, Yutaka Ueda, Yuji Takei, Hiroyuki Fujiwara and Takayuki Enomoto
2. 発表標題 XCL1 expression as a diagnostic biomarker and a possible biomarker of immune checkpoint inhibitor therapy for squamous cell carcinoma arising from mature cystic teratoma of the ovary
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------