

令和 4 年 9 月 6 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07433

研究課題名(和文)次世代シーケンス技術を活用した子宮肉腫のゲノム病理学的研究

研究課題名(英文)Pathological and genomic analyses of uterine sarcoma by next generation sequencing

研究代表者

前田 大地(Daichi, Maeda)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：30585500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：子宮肉腫の背景遺伝子異常については未だ不明な部分が多い。また、子宮肉腫の組織分類は、変遷が続いており、病理診断の現場では少なからず混乱が生じている。本研究では、子宮肉腫の遺伝子変異、融合遺伝子を検出するにあたって、次世代シーケンサー(NGS)を活用した。具体的には多数の遺伝子を網羅する独自のパネルを構築し、それらを用いて診断困難な子宮肉腫の背景遺伝子異常を探索した。その結果、JAZF1融合遺伝子を有する子宮内膜間質肉腫のみならず、GREB1融合遺伝子を有する稀な腫瘍の同定に至っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮肉腫の成り立ちを背景遺伝子異常の観点から整理し、より正確な病理診断を可能とすることで、適切な治療への誘導が可能になると考えられる。子宮肉腫に関しては様々な融合遺伝子の存在が知られるようになってきている。我々が開発した遺伝子パネルはその多くをカバーするもので、それを用いて今後、多数例の検討を行うことで、日本人の子宮肉腫の全貌を明らかにしていくことが可能だと考えている。

研究成果の概要(英文)：Genetic background of the uterine sarcomas remain largely unknown. Furthermore, there has been confusion regarding histological classification of these rare tumors. In this study, we utilized next generation sequencing to reveal mutations and fusion genes involved in the tumorigenesis of uterine sarcoma. We developed a gene panel that covers a large number of genes that are known to be altered in uterine sarcomas and applied it to actual cases. As a result, we identified uterine low-grade endometrial stromal sarcoma harboring JAZF1 fusion gene, and also a sarcoma that harbors GREB1 fusion. These findings would lead to elucidation of the genetic landscape of uterine sarcomas.

研究分野：病理学

キーワード：子宮肉腫

1. 研究開始当初の背景

子宮に生じる肉腫の大部分は内膜間質肉腫(ESS)、平滑筋肉腫(LMS)に分類されるが、いずれにも該当しない腫瘍、分類困難な腫瘍が少なからず存在する。子宮肉腫は婦人科腫瘍の中でも病理形態診断が困難な領域で、殊に ESS では組織亜型分類自体の変遷が続いてきた。近年の研究によって、ESS には *JAZF1-SUZ12* 融合遺伝子に特徴づけられる低異型度かつ予後良好な群と、*YWHAE-NUTM2* 融合遺伝子に特徴づけられる高異型度かつ予後不良な群が存在することが明らかとなり、遺伝子異常をある程度反映する形で疾患概念が整理されつつある。その後も欧米の施設から *ZC3H7B-BCOR* 融合遺伝子、*PHF1* 融合遺伝子を有する肉腫が報告され、それぞれの病理組織像、臨床像について知見の蓄積が進んできているものの、少数例を対象とした研究成果がほとんどで、子宮肉腫の背景遺伝子異常の全容解明には至っていない。また、日本人症例に関するデータは極めて乏しい。

LMS に関しては *TP53*、*RB1*、*ATRX*、*MED12* の変異が高頻度に起きていることが明らかとなった。中でも *MED12* 変異は子宮平滑筋腫においても高頻度に検出されることから、LMS の一部が平滑筋腫の悪性化によって生じている可能性が示唆されている。ただし、LMS の背景遺伝子異常と病理組織学的所見、予後などの臨床所見との相関は十分に検討されていない。また、ESS、LMS のいずれにも分類されない腫瘍や ESS と LMS の中間的な性質を示す腫瘍に関しては、まとまった症例数を対象とした研究報告が乏しい。

現状において、子宮肉腫の正確な病理診断と病態の把握に遺伝子解析が必須であることは自明である。しかしながら、従来の FISH 法、RT-PCR 法で多様な融合遺伝子を検出するのはコスト、労力の両面で難しい。故に実臨床では、子宮肉腫の遺伝子解析がほとんど行われず、結果的に子宮肉腫の背景遺伝子異常の大部分が未解明のままとなっている。研究代表者は、NGS を用いて多数の遺伝子を同時に検索することで、子宮肉腫の genotype の全体像を捉え、質的診断の向上、臨床への還元につなげられることができるはずだと考え、本研究を立案した。

2. 研究の目的

多数例の子宮肉腫を対象として、NGS を活用した遺伝子解析を施行し、既知の遺伝子異常の頻度や臨床病理学的意義を検討すると共に、新規遺伝子異常の探索を行う。日本人の子宮肉腫の遺伝子異常に関する包括的なデータを得ることを主目的とする。

3. 研究の方法

まず、病理診断への応用、臨床への還元を見据えて、子宮肉腫に特化したターゲットシーケンス用の遺伝子パネルを構築する。研究代表者の所属する研究講座では、NGS を用いて網羅的に融合遺伝子を検出するための Semi-nested-PCR 法による独自のライブラリー作成プロトコルを既に開発している。このプロトコルでは、片側の遺伝子特異的プライマーのみを用いて PCR 増幅を行うため、未知のパートナー遺伝子にも対応可能であるだけでなく、核酸の断片化が進んだホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)検体を対象とした解析ができる。本研究を遂行するにあたって、子宮肉腫関連遺伝子のプライマーを追加設計し、カスタマイズを進める。その上で、具体的な子宮肉腫症例、約 10 例を対象として、核酸を抽出し、遺伝子パネルによる異常検出を行う。

4. 研究成果

様式C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

子宮肉腫およびその前駆病変である endometrial stromal nodule など、約 10 例を対象として独自遺伝子パネルを用いた解析を行った結果、世界で初めて endometrial stromal nodule における MEAF6-PHF1 融合遺伝子の検出に成功した。この結果は、endometrial stromal nodule と low-grade endometrial stromal sarcoma が一連のスペクトラムであることを示唆するもので、学術的価値が高い。続いて、我々は sex cord-like な形態を示す腫瘍に着目して解析を行い、GREB1-NCOA2 融合遺伝子を有する特異な子宮肉腫の同定に至った。他にも、JAZF1 融合遺伝子を有する腫瘍、FGFR3 融合遺伝子異常を有する腫瘍などを見出し、最終的にはこれらを統合する形で臨床病理学的検討を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kito Masahiko, Maeda Daichi, Kudo-Asabe Yukitsugu, Tamura Daisuke, Makino Kenichi, Sageshima Masato, Nanjo Hiroshi, Terada Yukihiro, Goto Akiteru	4. 巻 109
2. 論文標題 Detection of MED12 mutations in mesenchymal components of uterine adenomyomas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 31 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2020.11.013	査読の有無 無
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 Halimi Sultan Ahmad, Maeda Daichi, Ushiku-Shinozaki Aya, Goto Akiteru, Oda Katsutoshi, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki, Ushiku Tetsuo, Fukayama Masashi	4. 巻 109
2. 論文標題 Comprehensive immunohistochemical analysis of the gastrointestinal and M?llerian phenotypes of 139 ovarian mucinous cystadenomas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 21 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2020.11.011	査読の有無 無
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 Suzuki Masami, Saito-Adachi Mihoko, Arai Yasuhito, Fujiwara Yuko, Takai Erina, Shibata Shinsuke, Seki Masahide, Rokutan Hirofumi, Maeda Daichi, Horie Masafumi, Suzuki Yutaka, Shibata Tatsuhiro, Kiyono Tohru, Yachida Shinichi	4. 巻 81
2. 論文標題 E74-Like Factor 3 Is a Key Regulator of Epithelial Integrity and Immune Response Genes in Biliary Tract Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 489 ~ 500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-19-2988	査読の有無 無
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 Yorozu Takashi, Nagahama Kiyotaka, Morii Takeshi, Maeda Daichi, Yoshida Akihiko, Mori Taisuke, Hayashi Akimasa, Shibahara Junji	4. 巻 45
2. 論文標題 Myoepithelioma-like Hyalinizing Epithelioid Tumor of the Foot Harboring an OGT-FOXO1 Fusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 287 ~ 290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001539	査読の有無 無
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 Nomura Yusuke, Tamura Daisuke, Horie Masafumi, Sato Masakazu, Sasaki Shinya, Yamamoto Yohei, Kudo Asabe Yukitsugu, Umakoshi Michinobu, Koyama Kei, Makino Kenichi, Takashima Shinogu, Imai Kazuhiro, Minamiya Yoshihiro, Munakata Satoru, Yachida Shinichi, Terada Yukihiro, Goto Akiteru, Maeda Daichi	4. 巻 59
2. 論文標題 Detection of MEAF6 PHF1 translocation in an endometrial stromal nodule	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes, Chromosomes and Cancer	6. 最初と最後の頁 702 ~ 708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/gcc.22892	査読の有無 無
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 Koyama Kei, Maeda Daichi, Kito Masahiko, Tamura Daisuke, Kudo Asabe Yukitsugu, Katoh Hiroto, Ishikawa Shumpei, Nanjo Hiroshi, Terada Yukihiro, Goto Akiteru	4. 巻 77
2. 論文標題 Clinicopathological and molecular analyses of linearly expanded epithelial cells with catenin alterations, “catenin signature”, in the normal fallopian tube	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 880 ~ 889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.14227	査読の有無 無
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 Baba Satoshi, Taguchi Ayumi, Kawata Akira, Hara Konan, Eguchi Satoko, Mori Mayuyo, Adachi Katsuyuki, Mori Seiichiro, Iwata Takashi, Mitsuhashi Akira, Maeda Daichi, Komatsu Atsushi, Nagamatsu Takeshi, Oda Katsutoshi, Kukimoto Iwao, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki, Kawana Kei	4. 巻 17
2. 論文標題 Differential expression of human papillomavirus 16-, 18-, 52-, and 58-derived transcripts in cervical intraepithelial neoplasia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virology Journal	6. 最初と最後の頁 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12985-020-01306-0	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 Takai Erina, Maeda Daichi, Li Zhuo, Kudo-Asabe Yukitsugu, Totoki Yasushi, Nakamura Hiromi, Nakamura Akiko, Nakamura Rumi, Kirikawa Misato, Ito Yukinobu, Yoshida Makoto, Inoue Takamitsu, Habuchi Tomonori, Ikoma Shohei, Katoh Hiroto, Kato Mamoru, Shibata Tatsuhiro, Ishikawa Shumpei, Yachida Shinichi, Goto Akiteru	4. 巻 10
2. 論文標題 Post-mortem Plasma Cell-Free DNA Sequencing: Proof-of-Concept Study for the “Liquid Autopsy”	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59193-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 該当する

1. 著者名 Tamura Daisuke, Maeda Daichi, Sato Toshiharu, Sugawara Tae, Shirasawa Hiromitsu, Shimizu Dai, Sato Naoki, Goto Akiteru, Terada Yukihiro	4. 巻 59
2. 論文標題 An extragonadal yolk sac tumor presumed to be of postmeiotic germ cell origin by genetic zygosity analysis via single nucleotide polymorphism array	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes, Chromosomes and Cancer	6. 最初と最後の頁 209 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/gcc.22817	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 Ikeda Yuji, Uemura Yukari, Asai-Sato Mikiko, Nakao Takehiro, Nakajima Takahiro, Iwata Takashi, Akiyama Azusa, Satoh Toyomi, Yahata Hideaki, Kato Kiyoko, Maeda Daichi, Aoki Daisuke, Kawana Kei	4. 巻 49
2. 論文標題 Safety and efficacy of mucosal immunotherapy using human papillomavirus (HPV) type 16 E7-expressing Lactobacillus-based vaccine for the treatment of high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL): the study protocol of a randomized placebo-controlled clinical trial (MILACLE study)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 877 ~ 880
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyz095	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 Inagaki Chiaki, Maeda Daichi, Kimura Akie, Otsuru Toru, Iwagami Yoshifumi, Nishida Naohiro, Sakai Daisuke, Shitotsuki Ryo, Yachida Shinichi, Doki Yuichiro, Satoh Taroh	4. 巻 11
2. 論文標題 Gallbladder cancer harboring ERBB2 mutation on the primary and metastatic site: A case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Oncology	6. 最初と最後の頁 761 ~ 767
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4251/wjgo.v11.i9.761	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 Tamura Daisuke, Maeda Daichi, Terada Yukihiro, Goto Akiteru	4. 巻 27
2. 論文標題 Distribution of Tattoo Pigment in Lymph Nodes Dissected for Gynecological Malignancy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 773 ~ 777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1066896919846395	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 Akiyama Yoshiyuki, Maeda Daichi, Katoh Hiroto, Morikawa Teppei, Niimi Aya, Nomiya Akira, Sato Yusuke, Kawai Taketo, Goto Akiteru, Fujimura Tetsuya, Fukuhara Hiroshi, Nakagawa Tohru, Igawa Yasuhiko, Ishikawa Shumpei, Fukayama Masashi, Kume Haruki, Homma Yukio	4. 巻 202
2. 論文標題 Molecular Taxonomy of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome Based on Whole Transcriptome Profiling by Next-Generation RNA Sequencing of Bladder Mucosal Biopsies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Urology	6. 最初と最後の頁 290 ~ 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/JU.0000000000000234	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
研究分担者	後藤 明輝 (Goto Akiteru) (90317090)	秋田大学・医学系研究科・教授 (11401)	

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