

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09753

研究課題名(和文) 子宮体部癌肉腫新規革新的新規治療戦略の構築

研究課題名(英文) Establishment of a new innovative treatment strategy for uterine carcinosarcoma

研究代表者

中村 圭一郎 (KEIICHIRO, NAKAMURA)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：90359886

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：RNA編集によってRNA転写後の塩基の修飾が行われ、インターフェロン経路の変化を引き起こすことが知られており、RNA編集酵素の一つであるAdenosine Deaminase family Acting on RNA1 (ADAR1) について、今回研究を行ったADAR1 ノックダウンによりインターフェロン経路に作用し、Bakとアポトーシスが增加を認め、当研究は子宮体部癌肉腫におけるRNA編集の意義について検討した初めての独創的な研究であり、バイオマーカーとなりうるだけでなく、新たな治療ターゲットとなりうることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体癌症例を解析した結果、ADAR1およびantizyme inhibitor 1 (AZIN1) の発現レベル上昇は組織型に関連しており、ADAR1とAZIN1 RNAレベルがいずれも上昇していた症例は予後不良であった。ADAR1 ノックダウンによりインターフェロン経路に作用し、Bakとアポトーシスが增加を認め、当研究は子宮体癌におけるRNA編集の意義について検討した初めての独創的な研究であり、子宮体癌バイオマーカーとなりうるだけでなく、新たな治療ターゲットとなりうることを示し、癌肉腫に特に有効なことが認められた。

研究成果の概要(英文)：Adenosine-to-inosine (A-to-I) RNA editing is a recently described epigenetic modification, which is believed to constitute a key oncogenic mechanism in human cancers. ADAR1 showed significant association with worse histology, and lymph vascular space involvement in EC. The level of AZIN1 RNA editing was also significantly associated with worse histology. ADAR1 expression was significantly correlated with AZIN1 RNA editing level. Multivariate analysis indicated that higher ADAR1 expression along with AZIN1 RNA editing is an independent predictor of prognosis in EC patients. Knockdown of ADAR1 led to increased MDA-5, RIG-I, PKR, and IRF-7 expression, which in turn resulted in increased levels of Bak and apoptosis in EC cells. High ADAR1 expression along with AZIN1 RNA editing could be a predictor of worse prognosis in EC. ADAR1 could be a potential therapeutic target in EC patients.

研究分野：婦人科

キーワード：子宮体部癌肉腫 RNA編集

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 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認め、従来から行われている治療法(抗癌剤等)から標的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なかなか有効な標的遺伝子は認められていない。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 症候群関連腫瘍であることに着目し,臨床病理学的特徴と遺伝子変異の照合を行い,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鋭意進めてきた。Lynch 症候群の原因として,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)や dMMR (MLH1/MSH2/MSH6/PMS2)発現の検討を,4つのモノヌクレオチドマーカー(BAT26, NR21, NR27, and CAT25)や dMMR の免疫組織法(immunohistochemistry, IHC)を用いて,検討した。また MLH1 プロモーター領域のメチル化とともに DNA 複製や修復に関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(exon9 と 13)の解析を行った。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 G3 を 2 例含んだが,全例再発なく良好な予後を示し,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 は予後良好であった(Haruma T et al. Plos one 2018)。そこで我々は症例を増やし,p53 発現も追加し,検討を行った。TCGA から発表された結果同様であり,POLE 変異と MSI は予後良好であった。一方,p53 陽性例は予後不良であったことを認め,再発中・高リスク群に対しても同様であったことを報告した(原賀ら、第 70 回日本産科婦人科学会学術講演会)。POLE 変異,MSI,p53 の組み合わせが子宮体癌の有効な予後予測可能な 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)が有効な治療法であることが解明できている。しかし POLE 変異や MSI の陰性例や P53 陽性例患者の有効な治療法解明は行われていない。癌発生や進行には DNA メチル化やヒストン脱アセチル化などの遺伝子変異を伴うエピジェネティックな異常の関与が示唆され,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る。

2. 研究の目的

上記でも述べたが,がん遺伝子パネル検査での子宮体癌のゲノム変異出現は約 40%と比較的高い頻度で認められるものも治験を含め,治療に役立つ有用な遺伝子情報は提供できていないのが現状である。そこで我々は RNA 編集に着目し,新規診断・治療戦略を考えている。従来,DNA から RNA への転写,タンパクへの翻訳は,いわゆる「セントラルドグマ」として絶対的なカスケードとして信じられてきたが,近年,転写された RNA において,特定の塩基が他の塩基へと変換される「RNA 編集」の現象が発見され,DNA の塩基配列が絶対的なものではないことが徐々に認知されてきた。2017 年には子宮頸癌における RNA 編集の意義が報告され,子宮頸癌では RNA 編集酵素(ADAR1)の発現が増加し,標的治療のターゲットとなる RNA の塩基置換が促進されることが報告されている(Chen Y, et al. Diagn Pathol. 2017)。特に AZIN1 (antizyme inhibitor 1) 遺伝子における A to I の RNA 編集部位はエキソン領域に位置し,この RNA における塩基置換によりタンパク質の構造が変化し,最終的に ODC(Ornithine decarboxylase)

と、その下流に位置するポリアミンの蓄積により、癌の悪性度が増すと報告されている (Shigeyasu K, et al. JCI Insight. 2018)。実際に臨床検体を用いた評価においても AZIN1 における RNA 編集が促進されている癌患者の予後が悪化することが報告され、癌組織における RNA 編集は癌患者の予後を予測するバイオマーカーとなるとともに新たな癌治療のターゲットになると期待が高まり、現在、世界レベルで癌における RNA 編集の解析が注目され始めてきている。網羅的に ADAR1 発現を調査すると婦人科癌における ADAR1 発現は 50% 以上を占めるが、しかし婦人科領域での ADAR1 の詳細な検討は Chen Y らの報告を含めても数報しか認めず、子宮体癌研究は詳細な検討は、いまだ報告されていない。そこで本研究は、POLE 変異や MSI の陰性例や P53 陽性例患者の多い子宮体部癌肉腫の RNA 編集意義を解析するとともに、これをターゲットとした新しい癌治療戦略の確立を目指すことを目的にした。

3. 研究の方法

子宮体部癌肉腫 5 症例を含んだ子宮体癌症例癌組織の RNA 編集関与する ADAR1 と AZIN1 発現を RT-PCR で確認し、再発時期等の解析を行った。その後、詳細な作用機序解明に子宮体部癌肉腫細胞株である TU-ECS-1 と JHUCS-1 や ADAR1siRNA を用いて、フローサイトメトリー、RT-PCR、Western blotting 等で解析を行った。

4. 研究成果

RNA 編集によって RNA 転写後の塩基の修飾が行われ、インターフェロン経路の変化を引き起こすことが知られており、RNA 編集酵素の一つである Adenosine Deaminase family Acting on RNA1 (ADAR1) について、今回研究を行った。

近年肝細胞癌、食道癌、胃癌、大腸癌などの癌腫において報告されてきたが、子宮体癌における RNA 編集の検討は未だ報告がなく、子宮体部癌肉腫について、詳細に RNA 編集の意義について検討した。子宮体癌症例を解析した結果、ADAR1 および antizyme inhibitor 1 (AZIN1) の発現レベル上昇は組織型に関連しており、ADAR1 と AZIN1 RNA レベルがいずれも上昇していた症例は予後不良であった (図.1)。ADAR1 ノックダウンによりインターフェロン経路に作用し、Bak とアポトーシスが増加を認め (図.2)、当研

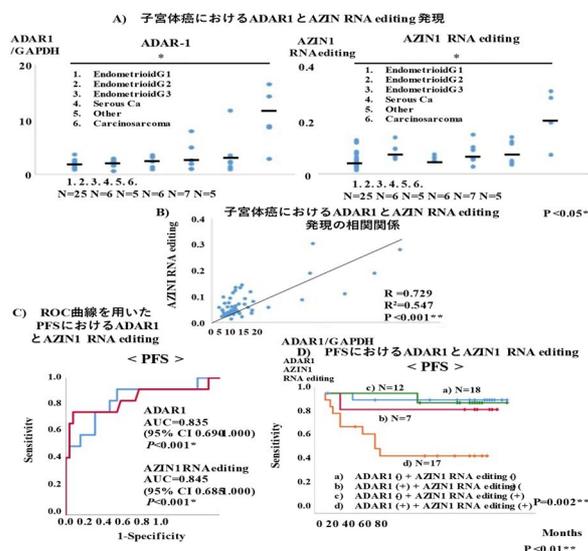


図.1

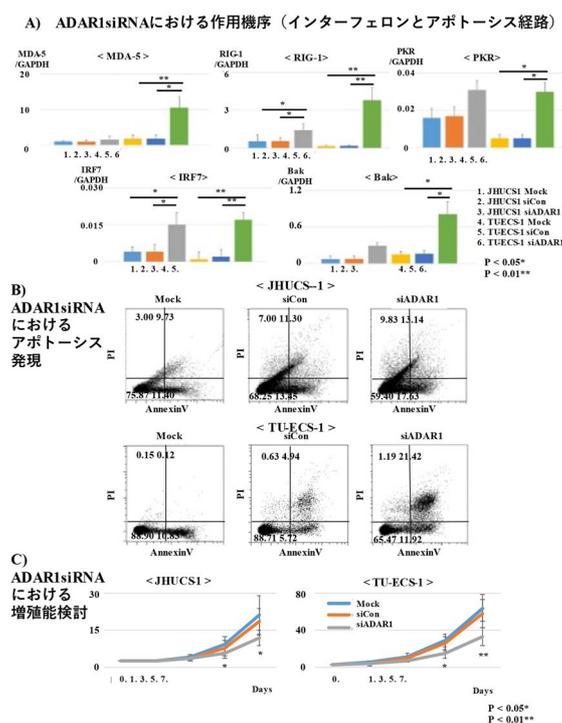


図.2

究は子宮体癌における RNA 編集の意義について検討した初めての独創的な研究であり、子宮体癌バイオマーカーとなりうるだけでなく、新たな治療ターゲットとなりうることを示した (ADAR1 and AZIN1 RNA editing function as an oncogene and contributes to immortalization in endometrial cancer. Nakamura K et. Al, 2022, Gynecol Oncol. 166(2):326-333.)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Saijo M, Nakamura K, Ida N, Nasu A, Yoshino T, Masuyama H, Yanai H.	4. 巻 43(11)
2. 論文標題 Histologic Appearance and Immunohistochemistry of DNA Mismatch Repair Protein and p53 in Endometrial Carcinosarcoma: Impact on Prognosis and Insights Into Tumorigenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol.	6. 最初と最後の頁 1493-1500.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000001353.	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 Matsubara Y, Nakamura K, Matsuoka H, Ogawa C, Masuyama H.	4. 巻 11(4)
2. 論文標題 Pre-treatment psoas major volume is a predictor of poor prognosis for patients with epithelial ovarian cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 376-382.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mco.2019.1912.	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 Okamoto K, Nakamura K, Matsuoka H, Matsubara Y, Haraga J, Ogawa C, Masuyama H.	4. 巻 12(4)
2. 論文標題 The presence of chronic diseases contributes to the occurrence risk factors for gynecological cancers in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 336-342
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mco.2020.1989.	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 Nakamura K, Shigeyasu K, Okamoto K, Matsuoka H, Masuyama H	4. 巻 166(2)
2. 論文標題 ADAR1 and AZIN1 RNA editing function as an oncogene and contributes to immortalization in endometrial cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gynecol Oncol .	6. 最初と最後の頁 326-333
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygyno.2022.05.026.	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	増山 寿 (Hisashi Masuyama) (30314678)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	小川 千加子 (Chikako Ogawa) (50583035)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	
研究分担者	松原 侑子 (Yuko Matsubara) (50835139)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・非常勤研究員 (15301)	
研究分担者	松岡 敬典 (Hirofumi Matsuoka) (60835057)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	

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
---------	---------