

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16565

研究課題名（和文）癌肉腫との比較解析による子宮体癌の予後因子や癌肉腫進展危険因子の同定

研究課題名（英文）Comparative analysis of endometrial carcinoma and carcinosarcoma to identify prognostic factors.

研究代表者

木原 淳（Kihara, Atsushi）

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：10806756

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）：アーカイブされていた癌肉腫症例のレビューにより、その一部は未分化癌あるいは脱分化癌に該当することが判明した。両者の臨床病理学的検討や免疫組織化学的検討を行い、未分化癌・脱分化癌の特徴を明確にした。SWI/SNF複合体サブユニットのSMARCA4/SMARCB1/ARID1Bの発現欠失は未分化癌・脱分化癌と明細胞癌のみに認められ、癌肉腫は全例発現保持していた。SMARCA4/SMARCB1/ARID1Bの欠失した未分化癌・脱分化癌は癌肉腫より予後不良であった。上皮間葉移行関連転写因子の発現は未分化癌・脱分化癌と癌肉腫のほぼ全例で認められたが、高悪性度子宮体癌では殆ど認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体部の未分化癌・脱分化癌は、癌肉腫や高悪性度類内膜癌と形態学的に類似しているため混同しやすく、病理診断において正確な診断が難しい。また、未分化癌・脱分化癌と癌肉腫を異なる疾患単位として捉えるべきが明確でなかった。本研究により、未分化癌・脱分化癌と癌肉腫の間に臨床病理学的な差異があり、少なくとも一部においては発症機序に違いがあることが示唆された。未分化癌・脱分化癌は癌肉腫と異なる独立した疾患で、それらの病理診断に有用な知見を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：We reviewed archived endometrial carcinosarcomas, some of which were reclassified undifferentiated or dedifferentiated endometrial carcinomas according to the latest WHO classification. To clarify the characteristics of undifferentiated and dedifferentiated endometrial carcinomas, clinicopathological and immunohistochemical studies were performed. Loss of expression of SWI/SNF complex subunits (SMARCA4/SMARCB1/ARID1B) was observed only in undifferentiated and dedifferentiated carcinomas and clear cell carcinomas. SMARCA4/SMARCB1/ARID1B-deficient undifferentiated and dedifferentiated carcinomas had a worse prognosis than carcinosarcoma. Expression of epithelial-mesenchymal transition-related transcription factors was observed in almost all cases of undifferentiated and dedifferentiated carcinomas and carcinosarcomas but was rarely observed in high-grade endometrial carcinomas.

研究分野：人体病理学

キーワード：癌肉腫 未分化癌 脱分化癌 子宮体部 クロマチンリモデリング ZEB1

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 子宮癌肉腫の発生機序と分子病理学的異常

子宮体部に発生する癌肉腫は癌腫成分と肉腫成分から構成される悪性腫瘍であり、高悪性度子宮体癌(類内膜癌 G3・漿液性癌・明細胞癌)よりも悪性度が高く予後不良である。癌肉腫の発生に関しては、主に高悪性度子宮体癌から上皮間葉転換(epithelial-mesenchymal transition, EMT)により肉腫成分が発生し、両者が混在して病変が形成されると考えられている。近年、婦人科領域の癌肉腫の網羅的遺伝子解析結果が報告されている(Jones et al. Nat commun. 2014; Zhao et al. PNAS. 2016; Cherniack et al. Cancer Cell. 2017)。PTEN、PIK3CA、FBXW7、KRAS、PPP2R1A、TP53など子宮体癌と共通する変異が多く、癌肉腫に認められ、癌肉腫が子宮体癌に由来する根拠のひとつとなっている。さらに、ヒストン蛋白をコードする遺伝子の変異、TERT 遺伝子の増幅、DNA の高メチル化も癌肉腫で指摘されている。また、EMT を惹起する転写因子(SNAIL や SLUG、ZEB1/2 など)の発現上昇や、EMT を抑制する microRNA(miRNA-141、miRNA-200 など)の発現低下も癌肉腫に認められる。

### (2) 癌肉腫と high-grade 子宮体癌における病理学的異常の関係性

上記のような癌肉腫の異常は、子宮体癌から癌肉腫が発生するのに重要であると推測される。しかし、形態学的に癌肉腫を生ずる前の段階、すなわち子宮体癌の段階でそれらの異常がすでに生じているかを比較検討した研究はなく、明確になっていない。以前、本研究者は高悪性度子宮体癌 52 例を検討し、それらの約 4 分の 1 で SLUG が高発現していることを示した(Kihara et al. Histopathology. 2016)。このことは癌肉腫への形態変化より前に癌肉腫に特徴的な分子病理学的異常が生じている可能性を示唆する。また、SLUG を高発現している子宮体癌は有意に予後不良であった。高悪性度子宮体癌の中にも癌肉腫同様の異常を獲得している一群の存在が推測され、子宮体癌の段階でそれらを同定することは癌肉腫への転化の危険因子を検出することになり、加えて子宮体癌の予後予測因子や治療標的になると考えられた。

## 2. 研究の目的

研究開始時における本研究課題の当初の目的は以下の通りである。

- (1) 癌肉腫でみられる蛋白発現や遺伝子の異常が高悪性度子宮体癌の段階で既に生じているのか、異常の起こる時期を明らかにする。
- (2) 癌肉腫との比較により、高悪性度子宮体癌が癌肉腫に転化する危険因子を同定するとともに、高悪性度子宮体癌の予後予測因子となるか検討する。
- (3) 上記で同定された因子が高悪性度子宮体癌の治療標的たりえる可能性を検討する。

## 3. 研究の方法

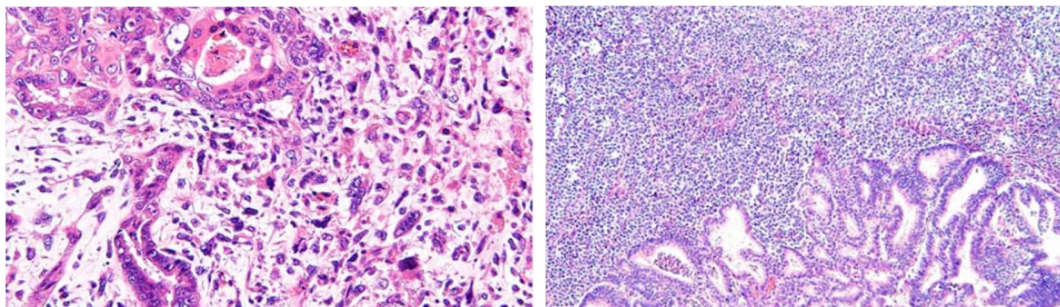
自治医科大学附属病院病理診断部にアーカイブされている癌肉腫および子宮体癌の手術検体約 570 例をレビューし、最新 WHO 分類(第 4 版および第 5 版)に基づいて再分類を行った。個々の症例の臨床病理学的情報は、カルテ、病理診断報告書、および標本の再検鏡により取得した。

保存されているホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから、2mm あるいは 3mm コアを採取して組織マイクロアレイを作製した。ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックあるいは組織マイクロアレイから薄切した切片を用い、免疫組織化学を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 癌肉腫および子宮体癌のレビューによる未分化癌・脱分化癌の同定

癌肉腫のアーカイブ検体を最新の WHO 分類に基づいてレビューしたところ、形態学的にその一部は脱分化癌に該当することが判明した(図 1)。



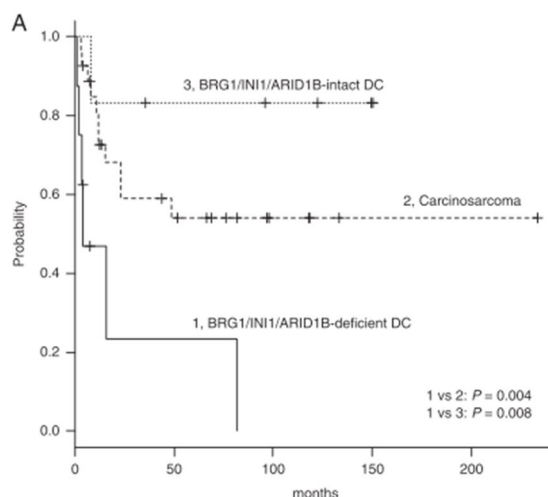
(図 1) 左,癌肉腫; 右,脱分化癌

### (2) 癌肉腫と未分化癌・脱分化癌の臨床病理学的検討および免疫組織化学的検討

当初、本研究では癌肉腫の持つ蛋白発現や遺伝子異常が、高悪性度子宮体癌においてどのよう

な意義を有しているのか明らかにするために計画された。症例レビューの結果、アーカイブされた癌肉腫のデータを獲得する前に、未分化癌・脱分化癌は癌肉腫の一部か、あるいは独立した疾患かを明確にする必要が生じた。しかし、癌肉腫と未分化癌・脱分化癌について比較検討した報告はなく、本研究ではそこから解析を開始した。

未分化癌・脱分化癌の一部ではクロマチンリモデリングを担う switch/sucrose nonfermenting (SWI/SNF) 複合体のサブユニット (SMARCA4, SMARCB1, ARID1B) の発現が欠失していることが近年報告されている。本研究でもそれらの発現を免疫組織化学的に検討したところ、未分化癌・脱分化癌 15 例のうち 9 例で発現欠失していたのに対し、癌肉腫 28 例で欠失を示す症例は無かった。SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 欠失未分化癌・脱分化癌 (9 例)、SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 発現未分化癌・脱分化癌 (6 例)、癌肉腫 (28 例) で臨床病理学的比較を行った。その結果、SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 欠失未分化・脱分化癌と癌肉腫の間で、年齢、ミスマッチ修復タンパク質の欠失の頻度、p53 発現異常の頻度、SMARCA2 発現の頻度に有意な差が認められた。これら 3 者間で予後を比較したところ、癌肉腫に比して SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 欠失未分化・脱分化癌は有意に予後不良であった (図 2)。以上から、癌肉腫と SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 欠失未分化・脱分化癌は異なる疾患単位とすべきだと考えられた (Kihara et al. Am J Surg Pathol. 2020)。



(図 2) SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 欠失未分化・脱分化癌 (9 例)、SMARCA4/SMARCB1/ARID1B 発現未分化・脱分化癌 (6 例)、癌肉腫 (28 例) の overall survival の比較。

### (3) 子宮原発間葉系腫瘍における SMARCA4/SMARCB2/SMARCB1 の発現の検討

未分化・脱分化癌の臨床病理学的特徴をより明確にするため、また子宮間葉系腫瘍における SMARCA4/SMARCB2/SMARCB1 発現欠失の関与を明らかにするため、免疫組織化学的検討を行った。

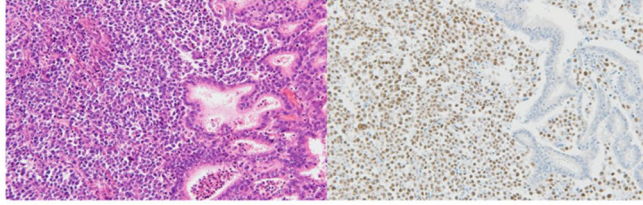
結果として、分類不能の小円形腫瘍 1 例と低悪性度子宮内膜間質肉腫 1 例で SMARCA4 発現欠失が認められた。その他の間葉系腫瘍 (平滑筋腫、平滑筋肉腫、高悪性度子宮内膜間質肉腫、未分化子宮肉腫、PEComa) では SWI/SNF 複合体サブユニットの発現は保たれていた。SMARCA4 発現欠失小円形腫瘍については遺伝子解析により *PIK3CA* 変異 (H1047R) が判明し、未分化癌と再分類された。この未分化癌のミスマッチ修復タンパク質発現は保持されていた。近年、新しい子宮肉腫として提唱された SMARCA4-deficient uterine sarcoma とは形態と免疫形質だけでは鑑別困難であり、未分化癌との鑑別のためには分子遺伝学的検索を要しうることを示した (Kihara et al. Human Pathol. 2021)。

### (4) 癌肉腫、未分化癌・脱分化癌、その他の子宮体癌における EMT 関連転写因子 ZEB1 の発現

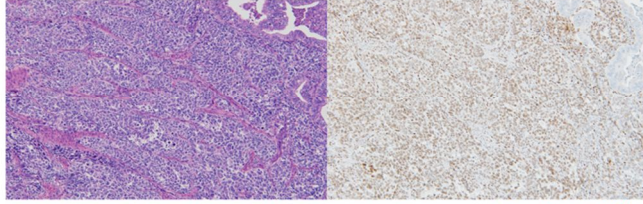
癌肉腫で発現しているとされる EMT 関連転写因子 ZEB1 が未分化・脱分化癌、その他の子宮体癌で発現しているか、および、その臨床病理学的意義や病理診断での鑑別マーカーとして有用性について検討した。

その結果、癌肉腫全例 (29 例) において肉腫成分に ZEB1 がびまん性に発現していた。また、脱分化癌や未分化癌の 73% (14/19)、類内膜癌 G3 の 6% (4/50)、漿液性癌の 3% (1/28)、明細胞癌の 5% (1/21)、神経内分泌癌の 33% (1/3) で、ZEB1 がびまん性発現していた (図 3)。特異度は高くないものの、ZEB1 は比較的感度の良い未分化・脱分化癌のマーカーと考えられた。一方で、ZEB1 発現と臨床病理学的因子や予後に明らかな相関は認められなかった。ZEB1 発現は形態および免疫形質における上皮性分化の喪失に関与するが、高悪性化への関与は無いことが示唆された (Kihara et al. Histopathology 2022)。

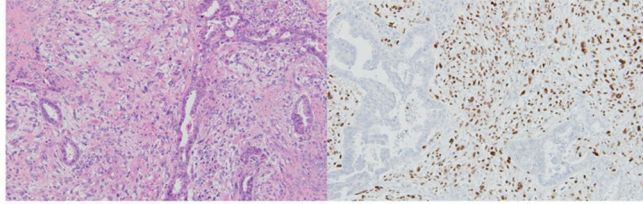
Diffuse expression  
in 73% of UC/DCs



Diffuse expression  
in 6% of Grade 3  
endometrioid  
carcinomas



Diffuse expression  
in sarcomatous  
components of all  
carcinosarcomas



(图 3) 未分化・脱分化癌、類内膜癌 Grade 3、癌肉腫におけるびまん性 ZEB1 発現

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10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 Kihara Atsushi, Iizuka Toshihiko, Endo Shinichi, Horie Koji, Kanda Hiroaki, Niki Toshiro	4. 巻 47
2. 論文標題 Ovarian clear cell carcinoma with an immature teratoma component showing <scp>ARID1A</scp> deficiency and an identical <scp> <i>PIK3CA</i> </scp> mutation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 3401 ~ 3407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14864	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 Kihara Atsushi, Amano Yusuke, Matsubara Daisuke, Fukushima Noriyoshi, Fujiwara Hiroyuki, Niki Toshiro	4. 巻 116
2. 論文標題 Infrequent loss of SMARCA4, SMARCA2, and SMARCB1 expression in uterine mesenchymal tumors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 12 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2021.07.001	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 Kihara Atsushi, Amano Yusuke, Matsubara Daisuke, Fukushima Noriyoshi, Fujiwara Hiroyuki, Niki Toshiro	4. 巻 44
2. 論文標題 BRG1, INI1, and ARID1B deficiency in endometrial carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of a large series from a single institution.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1712 ~ 1724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001581	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 Kihara Atsushi, Amano Yusuke, Yoshimoto Taichiro, et al	4. 巻 43
2. 論文標題 Stromal p16 Expression Helps Distinguish Atypical Polypoid Adenomyoma From Myoinvasive Endometrioid Carcinoma of the Uterus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1526 ~ 1535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001320	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 Kihara Atsushi, Takahashi Kazuya, Ishikawa Ayataka, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Desmoplastic small round cell tumor showing solid proliferation with limited desmoplasia and confusing immunohistochemical findings: an autopsy report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	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) 10.1007/s00795-019-00242-5	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 木原 淳
2. 発表標題 子宮間葉系腫瘍におけるSMARCA4とSMARCB1の発現の検討
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会(web)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木原 淳
2. 発表標題 Immunohistochemical analysis of SWI/SNF complex subunits expression in endometrial carcinomas
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会 (Web)
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
---------	---------