

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16874

研究課題名（和文）卵巣明細胞癌の腫瘍内不均一性に着目した真の治療標的遺伝子異常の同定

研究課題名（英文）Analysis of intra-tumoral heterogeneity of actionable genetic variations in Ovarian Clear Cell Carcinoma

研究代表者

竹中 将貴（Takenaka, Masataka）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：00433988

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では卵巣明細胞癌における治療関連遺伝子異常の腫瘍内不均一性を明らかにすること目的とした。初回手術時に3箇所以上から病変を切除した進行卵巣明細胞癌症例9例、57病巣を対象とした。18の遺伝子に38種類の遺伝子変異をが検出された。ARID1AおよびPIK3CAの異常はそれぞれ9例中5例で同定された。また原発よ転移病巣の比較で、ARID1AおよびPIK3CA遺伝子異常に腫瘍内不均一性が疑われた。以上より明細胞癌の個別化医療において、これらの遺伝子を標的とした治療を行う際は、腫瘍内不均一性に留意する必要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの薬物療法は、従来の殺細胞性抗がん剤に加えて、がん細胞で生じている遺伝子異常を標的とした分子標的治療薬が臨床現場で徐々に使用され始めている。それに伴い、遺伝子異常の腫瘍内不均一性は薬剤抵抗性に關与するとの報告もあり、今後は腫瘍内不均一性を考慮した治療薬の選択が求められる可能性がある。本研究では日本人に多く発生し、進行症例では極めて予後不良な卵巣明細胞癌の腫瘍内不均一性を調査し、一部の治療関連遺伝子異常で腫瘍内不均一性が生じている可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：The objective of the study was to clarify the intratumoral heterogeneity of treatment-related gene alteration in clear cell carcinoma of the ovary. The subjects were fifty-seven primary of metastatic lesions resected from nine cases in the initial surgery. Thirty-eight types of gene mutations were detected in eighteen genes. Pathogenic mutations in ARID1A and PIK3CA were identified in five of nine cases, respectively. Moreover, presence intratumoral heterogeneity was suspected in ARID1A and PIK3CA gene alterations in comparison of primary and metastatic lesions. From the results, it was suggested that it is necessary to pay attention to intratumoral heterogeneity when performing treatment targeting these genes in personalized medicine for clear cell carcinoma.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巣明細胞癌 腫瘍内不均一性 次世代シーケンス

1. 研究開始当初の背景

卵巣明細胞癌は日本人での発生率が欧米に比して高い(日本:25%, 欧米:5-10%)。卵巣明細胞癌の最大の特徴は高率に化学療法抵抗性を示すことである。特に進行症例では、現在の標準治療であるプラチナ製剤を主とする化学療法への奏効率は約11%と極めて低い(Sugiyama T et al. Cancer. 2000)。近年のゲノム網羅的な解析により、ARID1A, PIK3CA, PTEN, KRAS 等の遺伝子変異や、PI3K/AKT/mTOR, IL-6/STAT3 シグナル等の活性化が明らかになり、治療標的として期待されている(Wiegand KC et al. N Engl J Med. 2010; Anglesio MS Clin Cancer Res. 2011)。

近年様々な癌種において、転移病巣や再発病巣を含めた解析が施行されており、ゲノム・エピゲノム・腫瘍内微小環境などの ITH(Intra-tumoral heterogeneity: ITH)が報告されている(Rybinski B and Yun K. Oncotarget. 2016)。ITHは治療薬の選択や治療効果に大きく影響する可能性を有する。我々は2015年に日本人の卵巣癌の主要組織型における、治療関連遺伝子異常の発生頻度を比較し、卵巣明細胞癌では特に治療関連遺伝子異常の頻度が高い(78%)ことを報告したが、本研究は原発病巣のみの研究であった(Takenaka M et al. Int J Oncol. 2015)。その後も日本人卵巣明細胞癌における遺伝子解析研究結果が複数報告されているが、いずれも原発病巣の解析に留まっている。

2. 研究の目的

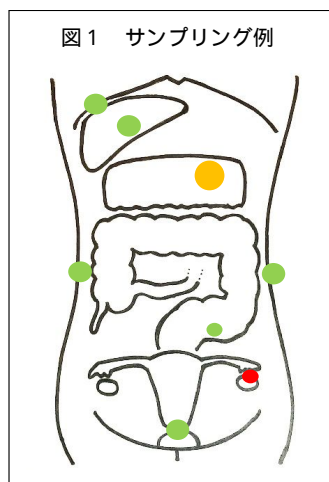
卵巣明細胞癌における原発および転移病巣の治療関連遺伝子異常を同定し ITH の有無を調査した。

3. 研究の方法

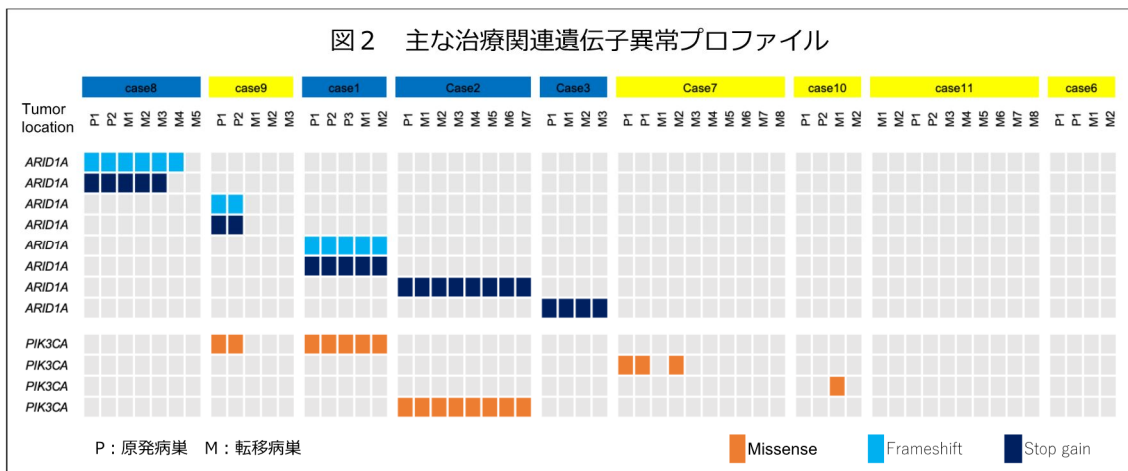
本研究は東京慈恵会医科大学の倫理委員会の承認を得た後に開始した(受付番号:31-116(9615))。2000年から2018年の間に、東京慈恵会医科大学附属病院または東京慈恵会医科大学附属柏病院にて外科的に切除された進行卵巣明細胞癌症例のうち、原発および転移病巣を含む3箇所以上の部位から病巣を摘出された症例を対象とした。対象症例における原発および転移病巣から30%以上の腫瘍細胞を含む領域を含む Formalin Fixed paraffin embedded (FFPE)を抽出し、マクロダイセクションを施行後にDNAを抽出した。卵巣明細胞癌で高頻度に生じている84種類の治療関連遺伝子の全エクソン領域をターゲットとするカスタムパネルを用いて、次世代シーケンサーによる腫瘍組織および正常組織のターゲットシーケンスを施行した。ターゲットシーケンスの結果をもとに卵巣明細胞癌で生じている治療関連遺伝子異常を検出し、病巣間での比較を行った。

4. 研究成果

進行卵巣明細胞癌9症例より採取した57病巣を対象とした。1症例からの平均サンプリング数は6.3箇所(範囲:4-10箇所)で、中央値は5箇所であった。図1にサンプリングの1例を示している。



ターゲットシーケンスの結果，平均 depth は 644 (範囲：106-1261) で，18 種類の遺伝子に 38 種類の病的変異が検出された。9 症例中 7 症例で少なくとも 1 つ以上の治療関連遺伝子異常が検出された。頻度が高かったのは ARID1A と PIK3CA で，それぞれ 9 例中 5 例 (55.6%) で検出された。(図 2) その他 KRAS, PIK3R1, CTNNB1, FGFR2, ERBB3, TP53 などの遺伝子に低頻度ながら変異を認められた。ARID1A, PIK3CA を含む 4 つの遺伝子で病巣ごとに変異ステータスに差が認められ，ITH が疑われた。



以上の結果より，卵巣明細胞癌で生じている一部の治療関連遺伝子異常では ITH が生じている可能性が示唆された。今後はさらなる ITH の検証を行うため，免疫染色を用いたタンパクレベルでの発現解析やサンガーシーケンス法を用いた確認を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹中将貴, 上井美里, 黒田高史, 川畑絢子, 高橋一彰, 飯田泰志, 矢内原臨, 高野浩邦, 岡本愛光
2. 発表標題 Spatial heterogeneity of the actionable genomic alterations in ovarian clear cell carcinoma
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022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
研究協力者	上井 美里 (Kamii Misato)		
研究協力者	黒田 高史 (Kuroda Takafumi)		
研究協力者	川畑 絢子 (Kawabata Ayako)		
研究協力者	高橋 一彰 (Takahashi Kazuaki)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	飯田 泰志 (Iida Yasushi)		
研究協力者	矢内原 臨 (Yanaihara Nozomu)		
研究協力者	高野 浩邦 (Takano Hirokuni)		
研究協力者	岡本 愛光 (Okamoto Aikou)		

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