

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09607

研究課題名（和文）若年子宮体癌に対する妊孕性温存ホルモン療法の予後予測因子の解明

研究課題名（英文）Evaluation of prognostic predictive factor of fertility preserving hormone therapy for young patients with endometrial cancer

研究代表者

山上 亘（Wataru, Yamagami）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

研究者番号：30348718

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）：若年発症の子宮体癌/子宮内膜異型増殖症（AEH）の臨床病理学的因子、分子遺伝学的因子を網羅的に明らかにすることを目的とした。若年性子宮体癌/AEH35例につき、遺伝子パネルである PleSSision-Rapid を用いて、遺伝子発現や copy number 等の解析を行い、FFPE 標本を用いて、免疫組織化学染色を施行した。

PTEN 遺伝子病的変異例は有意に病変消失率が低く、また PIK3CA 病的変異例は無再発生存率が有意に不良であった。また、p53 部分部分陽性例は病変消失率が低い傾向にあった。

臨床病理学的因子や遺伝子パネルシーケンス、免疫組織化学の多変量解析では組織型のみが有意な因子として抽出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体癌や子宮内膜異型増殖症に対する妊孕性温存療法の病変消失率や無再発生存期間を予測するマーカー遺伝子変異やタンパク変異を同定することができた。治療前の子宮内膜組織を用いて、治療効果を予測可能であることが示されたことで、妊孕性温存療法の選択の適否やその後の不妊治療の要否などが部分的ではあるものの、治療前に予測可能となったといえる。また、治療成績が良好である子宮全摘を含む標準治療を施行するべきかどうかの意志決定にも利用可能と考えられた。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to comprehensively clarify clinicopathological and molecular genetic factors in young-onset endometrial cancer/ atypical endometrial hyperplasia (AEH). In 35 cases of endometrial cancer/ AEH, gene expression and copy number were analyzed using the gene panel test "PleSSision-Rapid", and immunohistochemical staining was performed on FFPE specimens.

Patients with PTEN pathological variant had significantly lower tumor disappearance rates, and those with PIK3CA pathological variant had significantly poorer recurrence-free survival rates. In addition, p53 partially-positive cases tended to have a lower tumor disappearance rate.

Only histological type was extracted as a significant factor in the multivariate analysis of clinicopathological factors, gene panel sequencing and immunohistochemistry.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：妊孕性温存療法 子宮体癌 子宮内膜異型増殖症 黄体ホルモン 遺伝子パネル検査 免疫組織化学

1. 研究開始当初の背景

子宮体癌は本邦の女性のライフスタイルの変化(晩婚化,晩産化,食生活の欧米化など)により増加の一途をたどり,現在では婦人科悪性腫瘍の中で最多となっている.好発年齢は50才代であり,60才代,40才代の順に多い.生殖年齢である40才未満の発症は5%前後で推移しており,子宮体癌の増加に伴って,若年子宮体癌やその前癌病変とされる子宮内膜異型増殖症(AEH)患者も増加している.子宮体癌の標準治療はまず子宮全摘出術を含む手術療法を行い,術後再発リスクに応じて化学療法が行われることが多い(Yamagami et al. J Gynecol Oncol 2017).したがって,拳児希望を有する患者にとっては治療を行うことで妊孕性が消失することとなる.

それに対し,妊孕性温存が可能な治療法として,高用量黄体ホルモン療法がある.適応は(1)組織型が類内膜癌G1またはAEH,(2)画像診断にて,筋層浸潤や頸管進展,子宮外進展を認めない,(3)強い妊孕性温存希望がある患者であり,IA期であっても筋層浸潤を有する症例や,類内膜癌G2,G3,特殊組織型は適応とならない.当院における治療成績は病変消失率は類内膜癌G1で91%,AEHで98%と,標準治療よりは不良であるが,比較的良好である.しかし,治療後の子宮内再発のリスクが高く,類内膜癌G1で63%,AEHで42%であり,同じ適応症例の標準治療の術後再発率が4%程度であることに比べると,極めて成績が不良といえる(Yamagami et al. J Gynecol Oncol 2018).また,子宮内再発は治療後10年以降でも認められることがあり,一旦病変が消失したのちも,長期のフォローアップが必要である.治療効果判定や再発診断の方法は子宮内膜細胞診/子宮内膜組織診が必要であるが,疼痛や出血,感染のリスクを伴う侵襲的検査であり,子宮内癒着や子宮内膜の菲薄化といった不妊の要因にもなりうる検査を定期的に行わなければならないため,患者には多大な負担を強いている.子宮内膜細胞診/組織診によらない低侵襲でかつ治療効果や腫瘍予後,妊娠予後を正確に表す予測因子を探索することが急務と考えている.

また,子宮体癌は遺伝性腫瘍の1つであるLynch症候群に関連する悪性腫瘍のうち,大腸癌について多く,比較的若年で発症することからセンチネル癌と考えられている.Lynch症候群では25-60%で子宮体癌が発症するとされ,発症の平均年齢は48-62才とされているものの,40才未満の発症も17.3%あると言われている.一般的に家族性腫瘍の場合,発症年齢は若年化するため,妊孕性温存ホルモンの適応となる若年子宮体癌/AEH症例にもある一定の割合でLynch症候群の患者が含まれると考えられており,生殖細胞性変異を伴う若年子宮体癌/AEHの頻度や傾向,治療効果と関連のある分子生物学的特徴を明らかにすることは急務である.

2. 研究の目的

本研究は,若年子宮体癌/AEH患者の臨床因子,病理学的因子,分子生物学的因子,遺伝学的因子を網羅的に明らかにし,その治療効果や腫瘍予後,妊娠予後の予測因子を開発し,また,最適なサーベイランス等についての新たな戦略を開発することを目的とする.

3. 研究の方法

当研究機関で画像検査(骨盤造影MRI検査および胸部~骨盤腔造影CT)および子宮内膜全層掻爬術を施行して,子宮体癌IA期(類内膜癌G1,筋層浸潤なし)またはAEHと診断され,初回治療として酢酸メドロキシプロゲステロンによるホルモン療法を施行された患者のうち,2年以上の経過観察期間を有している症例を被検者として,以下の研究を行った.

(1) 腫瘍組織からの核酸抽出とp53免疫染色,CNV解析

MPA療法による組織の修飾の影響をなくすために,上記被検者の初回MPA療法開始前の子宮内膜掻爬検体を解析に用いた.免疫組織染色,DNA抽出のため手術摘出検体のパラフィンブロックよりパラフィン包埋薄切標本を作成した.またFFPE検体より腫瘍組織が70%以上となるようにトリミングし,DNA抽出を行った.

(2) 遺伝子パネル検査を用いた網羅的解析

被検者の初回治療前の腫瘍組織のFFPEより抽出したDNAを用いて,遺伝子パネル検査を行う.DNAの量および品質を確認したのち,当施設の腫瘍センター・ゲノム医療ユニットが開発した遺伝子パネル検査(PleSSision-Rapid)にてターゲットシーケンスを用い,ヒトの包括的ながんの発症と進行に関連する143遺伝子(表1)の変異およびコピー数解析を行った.PleSSision-Rapid検査には,子宮体癌の予後に関連する遺伝子であるPOLEやミスマッチ修復(MMR)遺伝子,TP53も含まれている.解析結果は専門の生物統計学者によるアノテーション後に,これらの結果と組織型,MPA療法の奏効率,病変消失までの期間,無再発生存期間,妊娠率など臨床病理学的因子や予後との関連性について解析した.

表1 PleSSision-Rapid 検査の遺伝子リスト (143 遺伝子)

ABL1	ACTN4	AKT1	AKT2	AKT3	ALK	APC	AR
ARAF	ARID1A	ARID2	ASXL1	ATM	ATRX	AXIN1	AXL
BAP1	BARD1	BCL2L11	BRAF	BRCA1	BRCA2	BRIP1	CARD11
CCND1	CD274	CD79B	CDH1	CDK12	CDK4	CDKN2A	CHEK2
CREBBP	CRKL	CSF1R	CTNNB1	CUL3	DDR2	DNMT3A	ECT2L
EGFR	ENO1	EP300	EPCAM	ERBB2	ERBB3	ERBB4	ESR1
EZH2	FANCA	FANCD2	FANCE	FBXW7	FGFR1	FGFR2	FGFR3
FGFR4	FH	FLT3	GNA11	GNAQ	GNAS	GRIN2A	HRAS
IDH1	IDH2	IGF1R	IGF2	IL7R	JAK1	JAK2	JAK3
KDM6A	KDR	KEAP1	KIT	KMT2D	KRAS	MAP2K1	MAP2K2
MAP2K4	MAP3K1	MAP3K4	MDM2	MDM4	MET	MLH1	MSH2
MSH6	MTOR	MYC	MYCN	MYD88	NF1	NF2	NFE2L2
NOTCH1	NOTCH2	NOTCH3	NPM1	NRAS	NRG1	NT5C2	NTRK1
NTRK2	NTRK3	PALB2	PBRM1	PDGFRA	PDGFRB	PIK3CA	PIK3R1
PIK3R2	PMS2	POLD1	POLE	PRKCI	PTCH1	PTEN	RAC1
RAC2	RAD51C	RAF1	RB1	RET	RHOA	ROS1	SETBP1
SETD2	SMAD4	SMARCA4	SMARCB1	SMO	SPOP	SRC	STAT3
STK11	TP53	TSC1	TSC2	VHL	WT1	XPC	

(3) 腫瘍組織を用いた分子遺伝学的分類と、臨床病理学的因子や予後の関連性を明らかにするために、初回治療前の腫瘍組織を解析に供し、WHO 組織分類 (第 5 版) に記載されている TCGA 分類の簡易版である ProMisE 分類に準じて、*POLE* ultramutated, MMR 欠損 (dMMR) hypermutated, p53 mutated, NSMP に簡易的に分類した。

(4) エストロゲン受容体 (ER), プロゲステロン受容体 (PgR) および p53 抗体を用いて、FFPE の免疫組織化学染色を行い、これらの結果と、組織型、MPA 療法の奏効率、病変消失までの期間、無再発生存期間、妊娠率など臨床病理学的因子や予後との関連性について解析した。

4. 研究成果

(1) 研究対象の若年性子宮体癌 / AEH としては、当院で 2016 ~ 2019 年に初回治療として高用量黄体ホルモン療法を施行した 38 例の治療前の子宮内膜全面掻爬検体の FFPE 標本の病変部より DNA を抽出し、DNA 量、Quality の確認を行い、35 例 (子宮体癌 (類内膜癌 G1) 17 例と AEH 18 例) につき、当院で開発した遺伝子パネルである PleSSision-Rapid を用いて、遺伝子発現や copy number 等の解析を行った。

表2 患者背景

	AEH (n=18)	G1 (n=17)
CR, n (%)	17 (94.4)	14 (82.4)
Median duration until CR (months)	7 (4-14)	7.5 (4-11)
SD ¹⁾ , n	0	1
PD ²⁾ , n	1	2
Recurrence, n (%)	7 (35.3)	14 (100)
Median RFS (months)	14 (2-56)	10 (3-36)
Pregnancy after treatment, n	5	3
Hysterectomy, n	4	11

1) SD: Endometrial tumor does not disappear by total endometrial curettage

2) PD: Post-treatment histological type or surgical staging become worse compared to those of before treatment

(2) 対象症例の原発巣を用いた遺伝子パネルシーケンスの結果は、*PTEN*, *CTNNB1*, *PIK3CA* の病的バリエーションを有する症例が多く、これらの遺伝子変異は AEH 症例においても、類内膜癌 G1 症例においても同様に認められた。他、類内膜癌 G1 症例においては、*ATM*, *PIK3R1*, *KRAS*, *SETD2* 等の病的バリエーションが散見された。Tumor mutation burden-high (TMB-High) 症例は 2 例認められた一方で、*TP53* 病的バリエーションを有する症例は認められなかった。

(3) パネルシーケンスの結果から、対象症例の分子遺伝学的分類を施行したところ、35 例中、NSMP 型が 33 例 (94%) を占め、*POLE* ultramutated 型、および dMMR hypermutated 型 (*MSH2* 病的バリエーション) がそれぞれ 1 例ずつで認められた。症例の詳細は表 3 のとおりであり、*POLE* ultramutated 型の 1 例は MPA 療法により類内膜癌 G1 から G2 に組織型の増悪をみたため、妊娠性温存を断念し子宮全摘出術を施行した。一方、dMMR hypermutated 型の 1 例は MPA 療法にて病変消失に至った。

表 3 分子遺伝学的分類と予後

Molecular subgroups	Histology	Age	Pathogenic variants	CR or SD/PD	Recurrence	Hysterectomy	Stage (FIGO2008)
<i>POLE</i>	G1	43	<i>POLE, BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PIK3CA, ERBB4, MTOR, SETD2, NF1PBRM1, ARID1A, MAP3KI, RB1, ATRX, PTEN</i>	PD G1 ↓ G2	-	+	<u>IA</u>
d-MMR	AEH	43	<i>MSH2, ATM, ARID1A, PTEN</i>	CR	-	-	-

(4) 免疫組織化学については、ER、PgR、p53 とともに、陰性症例は認められなかった。染色の強さにおいては、ER 弱陽性例が 6 例(17%)、PgR 弱陽性例が 2 例(6%)、p53 部分陽性例が 4 例(11%)それぞれ認められた。組織型と染色態度の相関は認められなかった。

(5) 遺伝子病的バリエーションや免疫組織化学の結果と、臨床病理学的因子や治療成績・予後との関連性を解析した。単変量解析では、*PTEN* 遺伝子病的バリエーション例は変異なし例に比べて、有意に病変消失率が低く、*PIK3CA* 病的バリエーション例は変異なし例に比べて、無再発生存 (RFS) が有意に不良であった。また、p53 部分陽性例は陰性例に比べて、病変消失率が低い傾向にあった。既存の臨床病理学的因子や遺伝子パネルシーケンス、免疫組織化学の結果と RFS との単変量解析の結果は、組織型と *PIK3CA* 病的変異が有意な因子として抽出されたものの、多変量解析では組織型のみが有意な因子として抽出された。

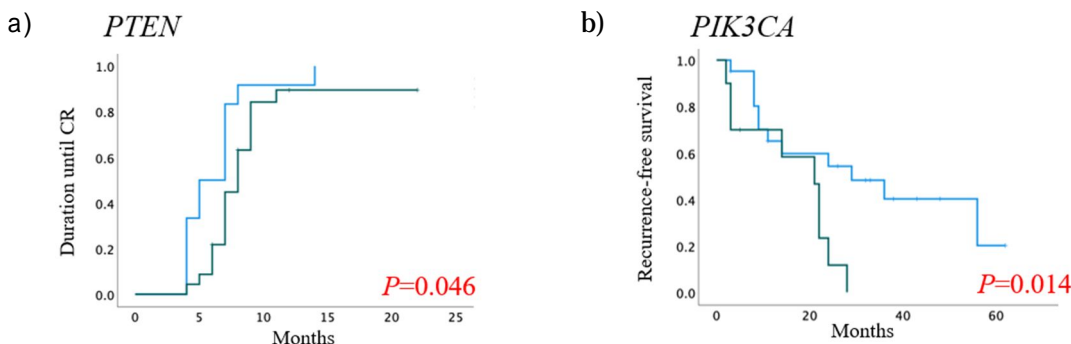


図 1 遺伝子病的バリエーションと病変消失までの期間，RFS (Kaplan-Meier 法，Log rank test)
 a) *PTEN* 病的バリエーションの有無と病変消失までの期間
 b) *PIK3CA* 病的バリエーションの有無と RFS

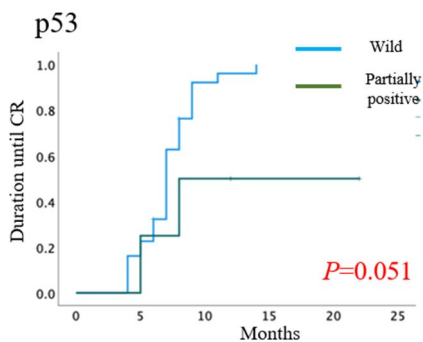


図 2 p53 染色態度と病変消失までの期間 (Kaplan-Meier 法，Log rank test)

以上より、*PTEN* や *PIK3CA* 病的バリエーションを有する症例や、p53 染色陽性の症例では、子宮体癌の妊孕性温存療法 (高用量 MPA 療法) の治療効果や予後が不良である可能性が示唆されたが、サンプルサイズが小さかったために、有意差は認められるものの、実臨床に応用できるほどのインパクトのある差が認められていないため、さらに症例数を増やして検討を続けたいと考えている。

当研究施設は、子宮体癌に対する妊孕性温存療法の経験症例数が 400 例を超えており、当初はサンプル数を増やせる可能性を期待していたが、腫瘍組織からの解析が必要なため、(1) 当研究施設で初回治療を施行、(2) 治療前の子宮内膜全面搔爬にて十分な組織量が採取されており、十分量の DNA 抽出が可能、(3) 治療効果およびその後十分なフォローアップがされている、という必要条件を満たす症例はかなり限られてしまった。また、過去の症例は中性緩衝ホルマリン以外で固定していた時代もあり、質量ともに十分な DNA を採取可能な症例数が十分に確保できなかった。現在は中性緩衝ホルマリンを用いているため、前方視的に症例数を増やして検討を続けたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 Yoshimura T., Yamagami W., Takahashi M., Hirano T., Sakai K., Makabe T., Chiyoda T., Banno K., Aoki D.	4. 巻 66(2)
2. 論文標題 Clinical Usefulness of Endometrial Cytology in Determining the Therapeutic Effect of Fertility Preserving Therapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Cytologica	6. 最初と最後の頁 106-113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000520701	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 山上 亘	4. 巻 73(11)
2. 論文標題 子宮体癌と個別化医療 - 低侵襲手術と機能温存 -	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本産科婦人科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1558-1566
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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15件（うち招待講演 5件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂井 健良, 山上 亘, 青木 大輔
2. 発表標題 子宮体癌の診断・治療アップデート 体癌の妊孕性温存療法の現状
3. 学会等名 第37回日本女性医学学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平田 桃, 山上 亘, 北澤 晶子, 家谷 佳那, 高橋 美央, 吉村 拓馬, 坂井 健良, 吉浜 智子, 千代田 達幸, 阪埜 浩司, 田中 守, 青木 大輔
2. 発表標題 子宮内膜異型増殖症の術前診断で腹腔鏡下手術を施行し、術後に子宮体癌と診断された症例の検討
3. 学会等名 第144回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山上 亘, 坂井 健良, 進 伸幸, 横山 良仁, 竹原 和宏
2. 発表標題 MPA療法後の子宮内再発に対する再度の妊孕性温存療法の検討
3. 学会等名 第64回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 irano T, Yamagami W, Yoshimura T, Sakai K, Chiyoda T, Nakamura K, Aimo E, Kawaida M, Nishihara H, Aoki D, Tanaka M.
2. 発表標題 Development of a prognostic biomarker of fertility-preserving hormonal therapy based on multi-gene panel testing for endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia
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

1. 発表者名 Sakai Kensuke, Yamagami Wataru, Takahashi Mio, Kuroda Yuka, Yoshimura Takuma, Hirano Takuro, Makabe Takeshi, Chiyoda Tatsuyuki, Banno Kouji, Susumu Nobuyuki, Tanaka Mamoru, Aoki Daisuke
2. 発表標題 Long-term outcome of MPA therapy for endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山上 亘
2. 発表標題 生涯研修プログラム1 Precison Oncology 子宮体癌と個別化医療 低侵襲手術と機能温存
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山上 亘, 吉村 拓馬, 平野 卓朗, 川井田 みほ, 真壁 健, 坂井 健良, 横田 めぐみ, 千代田 達幸, 阪埜 浩司, 青木 大輔
2. 発表標題 子宮体癌検出における内膜細胞診と内膜吸引組織診の臨床的役割と有用性 早期子宮体癌・子宮内膜異型増殖症に対する妊孕性温存療法における吸引組織診の有用性
3. 学会等名 第62回日本臨床細胞学会総会(春季大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉村 拓馬, 山上 亘, 中村 康平, 高橋 美央, 平野 卓朗, 坂井 健良, 真壁 健, 千代田 達幸, 小林 佑介, 阪埜 浩司, 西原 広史, 青木 大輔
2. 発表標題 当院の子宮体癌における, 遺伝子パネル検査結果に基づく臨床病理学的因子の解析
3. 学会等名 第63回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北澤 晶子, 坂井 健良, 山上 亘, 吉村 拓馬, 平野 卓朗, 真壁 健, 千代田 達幸, 阪埜 浩司, 進 伸幸, 青木 大輔
2. 発表標題 子宮体癌/子宮内膜異型増殖症への高用量黄体ホルモン療法における子宮外病変出現症例の検討
3. 学会等名 第63回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wataru Yamagami, Daisuke Aoki
2. 発表標題 Fertility-preserving Therapy for Endometrial Cancer
3. 学会等名 第63回日本婦人科腫瘍学会学術講演会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山上 亘,川井田 みほ,吉村 拓馬,坂井 健良,青木 大輔
2. 発表標題 早期子宮体癌と子宮内膜異型増殖症に対する妊孕性温存療法 - 長期治療例の検討
3. 学会等名 第53回日本婦人科病理学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒田由香, 山上亘, 吉村拓馬, 平野卓朗, 坂井 健良, 眞壁 健, 千代田 達幸, 小林 佑介, 阪埜 浩司, 青木 大輔
2. 発表標題 子宮体癌および子宮内膜異型増殖症に対する黄体ホルモン療法後の治療効果判定における子宮鏡検査の有用性に関する検討
3. 学会等名 第60回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉村拓馬, 山上 亘, 平野卓朗, 坂井健良, 眞壁 健, 千代田達幸, 阪埜浩司, 進 伸幸, 青木大輔
2. 発表標題 MPA療法の治療効果判定における, 子宮内膜細胞診の有用性について
3. 学会等名 第59回日本臨床細胞学会秋期大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉村拓馬, 山上 亘, 平野卓朗, 坂井健良, 眞壁 健, 千代田 達幸, 阪埜浩司, 進 伸幸, 田中 守, 青木大輔
2. 発表標題 当院におけるMPA療法後の妊娠成績に関する検討
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大石 真希, 春日 義史, 山上 亘, 長谷川 慶太, 遠藤 豊英, 佐藤 佑, 大谷 利光, 池ノ上 学, 落合 大吾, 宮越 敬, 田中 守, 青木 大輔
2. 発表標題 当院における高用量黄体ホルモン療法後妊娠の周産期臨床像
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
---------	---------