

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17594

研究課題名（和文）乳癌内分泌療法中に発生する子宮体癌の特徴の解明

研究課題名（英文）Molecular pathological characteristics in tamoxifen-related endometrial cancer

研究代表者

魚森 俊喬（Uomori, Toshitaka）

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：50529352

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）：まずTAM誘発子宮体癌のMSI statusを調査しMSI-highの腫瘍が散発性内膜癌より頻度が高いことを明らかにした。さらにMSI-highの腫瘍においてMMR蛋白の発現が欠失していることを確認した。次に両群の手術標本を用いて、癌部の遺伝子変異を次世代シーケンサーの癌遺伝子パネルを用いて解析した。その結果、TAM誘発子宮体癌においてCNVの有意に高い複数の遺伝子を同定した。一方でこれらの遺伝子に対応する蛋白質の発現には違いは認めなかった。本研究の成果は、今後TAM誘発子宮体癌の研究において得られるデータの解釈の際に有用な情報になり得ると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々はまずTAM誘発子宮体癌においてMSI-highの腫瘍の頻度が有意に高いことを明らかにした。さらに次世代シーケンサーを用いて解析によりTAM誘発子宮体癌においてCNVの有意に高い複数の遺伝子を同定した。本研究の成果は、今後同様にTAM誘発子宮体癌の研究を行っていく上で、研究計画の立案やデータ解釈の際に非常に有用な情報になり得ると考えている。

研究成果の概要（英文）：First, we investigated the MSI status of TAM-induced endometrial carcinomas and found that MSI-high tumors were more frequent than sporadic endometrial carcinomas. Furthermore, we confirmed that MMR protein expression was absent in MSI-high tumors. Next, surgical specimens from both groups were analyzed for genetic mutations in the cancer area using an oncogene panel on a next-generation sequencer. As a result, we identified several genes with significantly higher CNV in TAM-induced endometrial cancers. On the other hand, no differences were observed in the expression of proteins corresponding to these genes. We believe that our data may provide useful information for the interpretation of data obtained in future studies of TAM-induced endometrial cancer.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 タモキシフェン 内分泌療法 子宮体癌

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

乳癌の治療薬によって子宮体癌が誘発される

乳癌の約7割を占めるホルモン陽性乳癌では、術後に再発予防を目的として内分泌療法が行われる。代表的な薬剤が選択的エストロゲン受容体調節薬のタモキシフェン（以下 TAM）であるが、副作用として子宮体癌の発生が高まることが古くから知られている (*Lancet* 378:771-84, 2011; *J Natl Cancer Inst* 86:527-37, 1994)。これは本来エストロゲンシグナルを抑制するはずの TAM が、子宮内膜のエストロゲン受容体に結合すると部分的アゴニストとして機能を発揮し、上皮増殖を促進するためと推察されているが、具体的な機序は全くと言っていいほど不明である。

TAM により誘発される子宮体癌には予防方法がない

TAM 投与中は基本的に内膜肥厚を起こすため定期的な婦人科検診を必要とし、細胞診や組織生検も頻回に行われる。TAM により誘発される子宮体癌（以下、TAM 誘発子宮体癌）は古くから認識されているにも関わらず、その発症予測や予防方法は未だに全く確立していない。一方で最近の大規模な臨床試験の結果から、乳癌術後の TAM 推奨服用期間が従来の5年から10年へと延長された (*Lancet* 381:805-16, 2013)。さらに近年の薬物療法（抗がん剤）の進歩により乳癌再発率が改善され、TAM 服用を完遂する患者数自体も増えており、今後 TAM 誘発子宮体癌の発生が上昇することは必至である。従って TAM により本疾患を発症しやすい患者を予測し、予防方法を確立することは喫緊の課題である。

TAM 誘発子宮体癌では MSI-high の頻度が高い

これまでの予備実験で研究代表者は TAM 誘発子宮体癌でマイクロサテライト不安定性 (MSI) が高いことを見出した。MSI は DNA 修復機能欠損により DNA 複製時のエラーが蓄積された状態を指し、不安定性が高いことが発癌機序の一つと考えられている。MSI-high 固形癌は多くの体細胞遺伝子変異を有し腫瘍特異抗原の発現が高く、T 細胞リンパ球の認識を受けやすいと考えられる (*N Engl J Med* 372:2509-20, 2015)。これが 2018 年末に承認された T 細胞を再活性化する免疫チェックポイント阻害剤が MSI-high 固形癌に効果を示す根拠となっている。日本人の散発性子宮体癌における MSI-high の頻度が 10%であることを最近当科から報告したが (*J Obstet Gynaecol Res* 45:2037-42, 2019)、予備実験で解析した TAM 誘発子宮体癌 3 例は全例 MSI-high であった。このような事象はこれまでに全く報告されていない。そこで研究代表者は TAM が MSI を高め、MSI-high 子宮体癌の発癌を誘発するという仮説を立て、本研究の想起に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、なぜ TAM により子宮体癌が誘発されるのかという視点で TAM 誘発子宮体癌の特徴を明らかにし、TAM 誘発子宮体癌の予測・予防方法の確立を目指した。

MSI に着目する点：TAM 誘発子宮体癌に MSI-high 腫瘍が多いという予備実験のデータから導き出した「TAM が MSI を高め、MSI-high 子宮体癌の発癌を誘発する」という仮説は、これまでに検討が行われていない独自の切り口である。本研究により TAM 誘発子宮体癌の特徴を明らかにするだけでなく、散発性子宮体癌における MSI-high 腫瘍の発癌のしくみにも迫れる可能性があり、学術的意義は大きい。

臨床的意義；当院だけでも何千人もの TAM 内服患者が婦人科検診を余儀なくされ、それに伴い無数の細胞診や生検が行われているのが現状である。TAM 誘発子宮体癌の本質を追求することは、リスクのある患者を同定し発症予防につながるだけでなく、多くの不要な侵襲を避けることにもつな

がる。

3．研究の方法

(1) TAM 誘発子宮体癌に特異的な遺伝子変異を明らかにする

TAM 誘発子宮体癌及びコントロールの散発性子宮体癌のサンプル数をともに 10 例に増やし MSI status を調査するとともに、両群の癌部の遺伝子変異を次世代シーケンサーの癌遺伝子パネルを用いて解析し、TAM 誘発子宮体癌に特徴的な遺伝子変異を同定する。

(2) TAM が MSI を誘導する機序を明らかにする

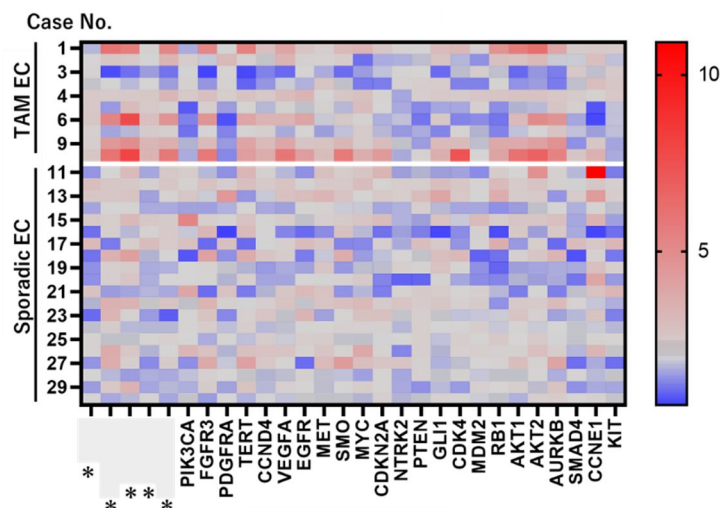
市販の正常子宮内膜細胞株及び MSI-low の内膜癌細胞株（MFE-280 等）を対象に、TAM 投与による MSI の変化、遺伝子変異の蓄積、糖鎖発現の変化を *in vitro* のレベルで検証する。TAM により MSI が高まることが実証できれば、TAM 誘発子宮体癌の発癌の一機序を明らかにするだけでなく、散発性子宮体癌における MSI-high 腫瘍の発癌機構の解明に寄与できる可能性がある。

4．研究成果

まず TAM 誘発子宮体癌のサンプル数を 10 例に増やし MSI status を調査したところ、MSI-high の腫瘍を 4 例(40%)で認めた。これは既報の日本人の散発性子宮体癌における MSI-high の頻度(10%)より高いものであった。さらにこれらのサンプルに MMR 蛋白の免疫染色を行い、MSI-high の腫瘍において MMR 蛋白の発現が欠失していることを確認した。一方で先行する乳癌の手術標本を用いて MMR 蛋白の発現を評価したものの、いずれの症例においても蛋白の欠失は見られなかった。

次に両群の手術標本を用い、癌部の遺伝子変異を次世代シーケンサーの癌遺伝子パネルを用いて解析した。その結果、コピー数変異の有意な違いを 5 つの遺伝子で認め（下図）これらの遺伝子の CNV(copy number variation)は TAM 誘発子宮体癌で有意に高かった（現在投稿中のため遺伝子名は非表示としてある）。さらにこれら 5 つの遺伝子が対応する蛋白質の発現を免疫染色で評価したところ、両群間で明らかな発現の違いは認めなかった。

この結果の相違は転写過程で何らかの欠陥や修飾があったためと考えられた。いずれにしてもこれらの遺伝子の TAM 誘発子宮体癌における生物学的意義についてはさらなる調査が必要と考えられる。



本研究の成果は、今後 TAM 誘発子宮体癌の研究において *in vitro* 及び *in vivo* の解析を進めていく中で得られるデータの解釈の際に有用な情報になり得ると考えている。

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 Harumi Saeki, Yoshiya Horimoto, Tsuyoshi Saito, Takashi Yao
2 . 発表標題 Microsatellite instability in tamoxifen-related endometrial cancer
3 . 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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