

令和 6 年 5 月 26 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16785

研究課題名（和文）XCL1発現に着目した卵巣成熟嚢胞性奇形腫悪性転化症例に対する新規治療戦略の構築

研究課題名（英文）Novel therapeutic strategy based on XCL1 expression for squamous cell carcinoma arising from mature cystic teratoma of the ovary

研究代表者

田村 亮（Tamura, Ryo）

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：70650620

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：卵巣成熟奇形腫から発生した扁平上皮癌に対して、腫瘍内の複数箇所からサンプリングを行い網羅的に遺伝子異常を評価することで、本疾患が腫瘍内の組織所見毎に強い腫瘍内不均一性を有すること、症例毎に複雑なゲノム進化をしていることを明らかにした。また、本疾患における遺伝子変異パターンとして、APOBEC型変異が多いことを明らかにした。さらに、悪性転化の機序を解明するため、扁平上皮癌症例の非癌部の扁平上皮や成熟奇形腫例の扁平上皮に着目し、これらに対し上皮選択的サンプリングを行なった後に網羅的に遺伝子異常を評価することで、TP53変異やAPOBEC型変異の蓄積が悪性転化に関与していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣成熟奇形腫悪性転化症例が、組織所見毎に強い腫瘍内不均一性を有することは、本疾患の治療抵抗性の強さに関連している可能性が高く、また実臨床での腫瘍の採取部位や遺伝子異常の評価に注意を促す重要な結果であると考えられる。また、非癌部を含めた解析により、TP53変異やAPOBEC型変異の蓄積が悪性転化に関与していることを見出したことは、今後本疾患の早期発見や治療に結びつく可能性があり、臨床的意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we clarified the spatial genomic diversity and clonal evolution in squamous cell carcinoma arising from ovarian teratoma by performing a comprehensive genomic analysis of multiple sites. We also revealed that APOBEC signature mutations are common in this disease. To elucidate the mechanism of malignant transformation, we focused on the noncancerous parts of the disease, specifically evaluating the squamous epithelium in both squamous cell carcinoma and mature teratoma cases. After selectively sampling these epithelia, we comprehensively evaluated their genetic abnormalities and found that TP53 mutations and APOBEC-mediated mutations were involved in malignant transformation.

研究分野：産婦人科

キーワード：卵巣成熟奇形腫悪性転化 腫瘍内不均一性 全エクソンシーケンス APOBEC 免疫チェックポイント阻害薬

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。

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

卵巣成熟奇形腫悪性転化は稀であるが、極めて予後不良であり、その分子生物学的特徴の多くが未解明である。我々は先行研究において、卵巣成熟奇形腫から発生した扁平上皮癌に対してマルチオミクス解析を行うことで、*TP53* 変異や *PIK3CA* 変異を高頻度で認めること、遺伝子発現プロファイルが肺から発生した扁平上皮癌と類似していること、また細胞障害性 T 細胞の活性化の過程で重要な役割を持つ XCL1 が本疾患で特徴的に高発現していることを明らかにした。さらに腫瘍 XCL1 発現が免疫チェックポイント阻害薬の奏効を予測する有力なバイオマーカーである CD8 陽性リンパ球の腫瘍浸潤および腫瘍 PD-L1 発現と相関があることを見出した。

2. 研究の目的

本研究では先行研究に引き続き、検体数の追加による分子生物学的特徴の検証、XCL1 の発現差による違いの検証、実験リソースの作成と XCL1-XCR1 経路の機能解析および抗 PD1/PD-L1 抗体の効果の検証を目的とした。

3. 研究の方法

希少癌であり検体数の蓄積が予定通りに進まず、また新規 2 症例に対して実験リソースの作成を試みたが、安定細胞株を確立するに至らなかったため、計画していた機能解析が困難であった。そこで、本疾患のさらなる分子生物学的特徴の解明を目的として、同一症例内の複数箇所の評価による腫瘍内不均一性やゲノム進化の評価や、非癌部に着目した悪性転化の機序についての評価を行なった。腫瘍内に組織所見の異なる病変が混在する 2 例に対し、腫瘍内の複数箇所からサンプリングを行い、DNA を採取した後に全エクソンシーケンスを行い、遺伝子異常（遺伝子変異、コピー数変化）を評価した。同一症例内のサンプル間で比較することで、腫瘍内不均一性やゲノム進化について症例毎に評価した。次に得られた遺伝子変異データから一塩基置換のパターンを解析した。この解析では、先行研究で解析した卵巣成熟奇形腫由来の扁平上皮癌 4 症例もあわせて追加解析した。さらに、非癌部の評価として、扁平上皮癌 2 症例に併存する扁平上皮、成熟奇形腫 22 例の扁平上皮に対して、レーザーマイクロダイセクションを用いた上皮選択的サンプリングを行い、同様に全エクソンシーケンスを行い遺伝子異常を評価することで、悪性転化の機序について評価した。

4. 研究成果

(1) 成熟奇形腫由来の扁平上皮癌の腫瘍内不均一性とゲノム進化

腫瘍内に組織所見の異なる病変が混在する 2 例に対し、腫瘍内マルチサンプリングを行い遺伝子異常を評価した。症例 1 では、ポリープ状病変と浸潤性病変が混在し、それぞれ、角化型・非角化型扁平上皮癌の所見であった。症例 2 では、充実性病変と浸潤性病変が混在し、それぞれ脱

分化癌と非角化型扁平上皮癌の所見であった(図1)。2症例のサンプリング部位毎の遺伝子変異の共有を評価すると、組織所見毎に多くの遺伝子変異を共有していること、同じ組織所見でも部位毎に固有の変異を有していることが明らかとなった。また、症例1では非がん部まで一定の変異が共有されているのに対し、症例2の非がん部ではほとんど変異がなかった(図2)。本疾患で高頻度に認める *TP53*、*PIK3CA* 変異についても、同一症例内で顕著な腫瘍内不均一性を認めた(図3)。

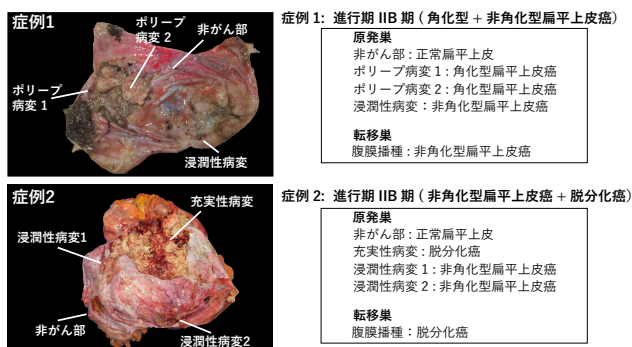


図1. マルチサンプリングを行った2症例における組織所見の多様性

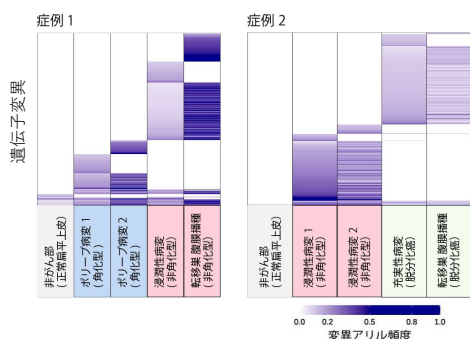


図2. 採取部位毎の遺伝子変異の共有

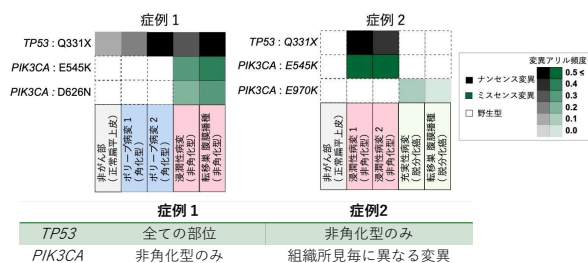


図3. 採取部位毎の *TP53*、*PIK3CA* 変異の違い

2症例の腫瘍内不均一性とゲノム進化について図4に示す。症例1では非癌部を含め腫瘍全体に *TP53* 変異が広がり、そこから固有の変異が入ることで角化型、非角化型に分化したと考える。一方、症例2では非癌部にはほとんど変異を認めず、局所的に *TP53* 変異が起こりその部位は非角化型扁平上皮癌に分化し、脱分化癌については全く別の機序で発生したと考えられた。また、転移巣ではいずれの症例も、片方のクローンのみ認めた。以上から、本疾患の強い腫瘍内不均一性と症例毎に複雑なゲノム進化をしていることが明らかとなった¹。

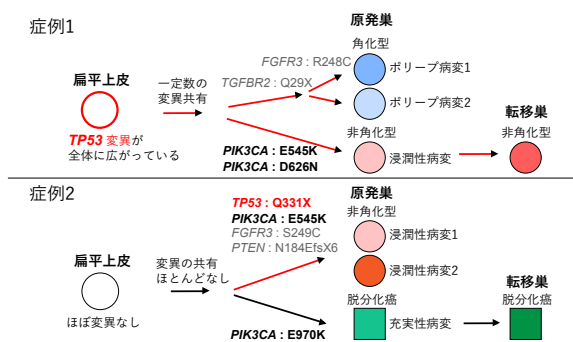


図4. 2症例の腫瘍内不均一性と症例毎に複雑なゲノム進化

(2) 成熟奇形腫由来の扁平上皮癌の遺伝子変異パターンの評価

先行研究で対象としていた4例を含めて、卵巣成奇形腫由来の扁平上皮癌6例について遺伝子変異パターンの解析を行なった。代表的な14個の一塩基変異シグネチャーの割合を症例毎に評価したところ、ほとんどの症例で

Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like (APOBEC)型変異が多くを占めていることが明らかとなった(図5)。特に、マルチサンプリングをした2症例では、組織型毎に遺伝子変異は顕著に異なっていたが、遺伝子変異シグネチャーは同一症例内で類似していた。

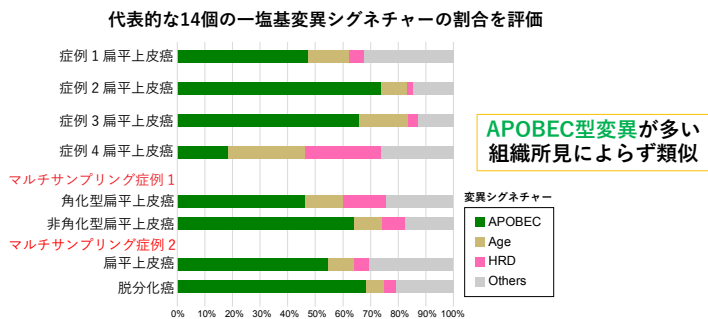
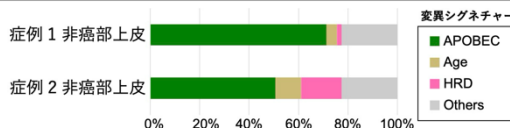


図5. 本疾患における症例毎の遺伝子変異シグネチャー

APOBEC型変異は抗ウイルス反応や炎症性環境で誘導されるAPOBEC酵素による変異で、さまざまな癌腫で発癌や進展への関与が報告されているが、²⁻⁴組織所見を超えて同じ傾向を認めることから、奇形腫内の微小環境との関連が示唆された。次に、ほとんどの悪性転化例で同定される、TP53変異やAPOBEC型変異の蓄積の意義について評価するため、非癌部に注目した。その結果、扁平上皮癌症2例の非がん部の上皮では、いずれも高アレル頻度のTP53変異とAPOBEC型変異の蓄積が起こっていたのに対し、19-56歳の成熟奇形腫22例の扁平上皮には、これらの変化は認めなかった(図6)。

扁平上皮癌2例の非癌部

	TP53変異	アレル頻度
症例1 非癌部上皮	Q331X	0.77
症例2 非癌部上皮	K132N	0.66
	D184H	0.64



成熟奇形腫22例(19-56歳)の扁平上皮：いずれの変化も認めず

図6. 非癌部における遺伝子異常

可能性があり、免疫チェックポイント阻害薬の効果を予測するバイオマーカー候補としても報告されている^{4,5}。以上から、腫瘍内不均一性が強く、遺伝子異常のターゲットを絞りにくい点からも、免疫チェックポイント阻害薬が本疾患に有用な可能性があると考えられた。

(3) 本研究結果から考えられる仮説と今後の課題

本研究および先行研究の結果から、本疾患の多くに対して抗PD-1抗体が有効な可能性考えられた。これらの結果から、治癒切除不能進行・再発卵巣扁平上皮癌に対するペムブロリズマブ療法の有効性及び安全性を評価する単群非盲検第II相試験(JGOG3029試験)が考案され、現在国内で進行中である。APOBEC型変異の蓄積がなぜ起こるのか、本疾患の免疫状態にどのように関連しているか、また先行研究で同定したXCL1との相関などについては今後の課題としてあげられる。

希少がんであり、今後遺伝子異常や組織多様性のさらなる検証のためには、より大きな規模で症例の集積を進めていくことが必要不可欠と考える。これらにこの課題に対し筆者らは、本邦における卵巢成熟奇形腫由来の卵巢がんに対する後方視的調査研究(JGOG3034 試験)を立案し開始している。

(4) 上記以外の研究成果

卵巢成熟奇形腫から発生した扁平上皮癌で、既報がなかった相同修復欠損を伴う症例について、その遺伝子異常と臨床経過について報告した⁶。卵巢漿液粘液性境界悪性腫瘍から発生した扁平上皮癌症例に対し、遺伝子異常や臨床経過を報告し、成熟奇形腫から発生した扁平上皮癌との違いについても考察した⁷。

<引用文献>

1. Tamura R, Nakaoka H, Yachida N, et al. Spatial genomic diversity associated with APOBEC mutagenesis in squamous cell carcinoma arising from ovarian teratoma. *Cancer Sci* 2023; **114**(5): 2145-57.
2. Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature* 2020; **578**(7793): 94-101.
3. Dananberg A, Striepen J, Rozowsky JS, Petljak M. APOBEC Mutagenesis in Cancer Development and Susceptibility. *Cancers (Basel)* 2024; **16**(2).
4. Hata AN, Larijani M. Targeting APOBECs in cancer: It's about timing. *Cancer Cell* 2024; **42**(4): 497-501.
5. Takamatsu S, Hamanishi J, Brown JB, et al. Mutation burden-orthogonal tumor genomic subtypes delineate responses to immune checkpoint therapy. *J Immunother Cancer* 2022; **10**(7).
6. Tamura R, Yamaguchi M, Kitani Y, Nishikawa N, Kawasaki T, Kikuchi A. Successful treatment of advanced squamous cell carcinoma arising from mature cystic teratoma of the ovary with homologous recombination deficiency: A case report. *Int J Surg Case Rep* 2023; **107**: 108329.
7. Tamura R, Kushiya N, Yamaguchi M, et al. Refractory ovarian squamous cell carcinoma arising from a seromucinous borderline tumor with squamous overgrowth: A case report. *Gynecol Oncol Rep* 2024; **51**: 101323.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 Tamura Ryo, Nakaoka Hirofumi, Yachida Nozomi, Ueda Haruka, Ishiguro Tatsuya, Motoyama Teiichi, Inoue Ituro, Enomoto Takayuki, Yoshihara Kosuke	4. 巻 114
2. 論文標題 Spatial genomic diversity associated with <sc>APOBEC</sc> mutagenesis in squamous cell carcinoma arising from ovarian teratoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2145 ~ 2157
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15754	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 Tamura Ryo, Yamaguchi Masayuki, Kitani Yohei, Nishikawa Nobumichi, Kawasaki Takashi, Kikuchi Akira	4. 巻 107
2. 論文標題 Successful treatment of advanced squamous cell carcinoma arising from mature cystic teratoma of the ovary with homologous recombination deficiency: A case report	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Surgery Case Reports	6. 最初と最後の頁 108329 ~ 108329
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijscr.2023.108329	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 -

1. 著者名 Tamura Ryo, Kushiya Naohisa, Yamaguchi Masayuki, Nishikawa Nobumichi, Motoyama Teiichi, Kawasaki Takashi, Kikuchi Akira	4. 巻 51
2. 論文標題 Refractory ovarian squamous cell carcinoma arising from a seromucinous borderline tumor with squamous overgrowth: A case report	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 101323 ~ 101323
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gore.2024.101323	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村亮
2. 発表標題 マルチオミックス統合解析に基づいた難治性卵巣がんの新規治療戦略
3. 学会等名 第76回産科婦人科学会総会 シンポジウム
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 田村亮、櫛谷直寿、山口雅幸、西川伸道、菊池朗
2. 発表標題 がん遺伝子検査が治療選択に有効であった難治性卵巣扁平上皮癌の2例
3. 学会等名 R5年新潟産婦人科学会同窓会集談会
4. 発表年 2023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
---------	---------