

令和 6 年 9 月 22 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16815

研究課題名（和文）子宮平滑筋肉腫の新規革新的治療戦略の構築

研究課題名（英文）Novel and Innovative Treatment Strategies for Uterine Leiomyosarcoma

研究代表者

松岡 敬典（Matsuoka, Hirofumi）

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：60835057

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）：子宮平滑筋肉腫は子宮平滑筋を発生母地とする間葉系悪性腫瘍であり、全子宮悪性腫瘍に占める割合は3%程度と稀少疾患であるが予後不良である。我々の研究グループでは子宮平滑筋肉腫のエピジェネティクスに着目した革新的新規治療戦略の構築を試みた。子宮平滑筋肉腫の既存検体におけるケモカインレセプターの免疫組織染色および病理組織学的なデータと予後とを検討した。また子宮平滑筋肉腫細胞株における遺伝子変異についてPCRにて確認した。その結果、子宮平滑筋肉腫細胞株においてケモカインCXCR3の高値を認めることと、患者検体の平滑筋肉腫を含む部位の免疫組織染色においても、CXCR3受容体の発現が多く認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮平滑筋肉腫は子宮平滑筋を発生母地とする間葉系悪性腫瘍であり、全子宮悪性腫瘍に占める割合は3%程度と稀少疾患であり予後不良である。薬剤選択や治療予後予測における確立したバイオマーカーが存在しないという問題点がある。また、遺伝子変異量が低い子宮平滑筋肉腫では、免疫チェックポイント阻害剤も十分な治療効果をしていない。我々の研究グループでは子宮平滑筋肉腫のケモカインレセプターに着目し、子宮平滑筋肉腫細胞株においてケモカインCXCR3の高値を認めることと、患者検体の平滑筋肉腫を含む部位の免疫組織染色においても、CXCR3受容体の発現が多く認められことを確認した。

研究成果の概要（英文）：Uterine leiomyosarcoma is a mesenchymal malignancy that originates from the smooth muscle of the uterus and accounts for only about 3% of all uterine malignancies, making it a rare disease with a poor prognosis. Our research group has attempted to develop innovative novel therapeutic strategies focusing on the epigenetics of uterine leiomyosarcoma. We examined immunohistochemical and histopathological data of chemokine receptors in existing specimens of uterine leiomyosarcoma and their prognosis. Genetic mutations in uterine leiomyosarcoma cell lines were identified by PCR. As a result, we found high levels of chemokine CXCR3 in the uterine leiomyosarcoma cell line and high expression of CXCR3 receptors in immunohistochemistry of the area containing leiomyosarcoma in the patient's specimen.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮平滑筋肉腫 ケモカイン 免疫チェックポイント阻害剤

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

子宮平滑筋肉腫は子宮平滑筋を発生母地とする間葉系悪性腫瘍であり、全子宮悪性腫瘍に占める割合は3%程度と稀少疾患であるが、早期より肺や肝臓などに血行性に転移しやすく、上皮性悪性腫瘍に比べ、予後不良である。細胞増殖シグナルの転写経路やアポトーシスの誘導機序に着目した新規分子標的薬が軟部肉腫疾患において使用されるようになり、一部の奏功例も認められるが、薬剤選択や治療予後予測における確立したバイオマーカーが存在しない。The Cancer Genome Atlas(TCGA)による網羅的ゲノム解析では、多くの癌腫で変異遺伝子が同定され、それらを標的とした治療戦略がいくつかの癌種においては奏功している。一方で、子宮平滑筋肉腫を含む軟部肉腫においては、癌抑制遺伝子である p53 や Rb1 などの変異が認められるものの、全体の遺伝子変異量(Tumor mutation burden)は他の癌腫と比べて低いと報告された。

子宮平滑筋肉腫は POLE 変異や MSI 陽性症例は非常に少なく、免疫チェックポイント阻害剤も含め、分子標的薬は十分な治療効果を上げていない。近年 MSI 陽性症例の固形がんに対して、抗 PD-1 抗体である Pembrolizumab が承認され、子宮内膜癌をはじめとした婦人科悪性腫瘍ですでに導入されているが、肉腫疾患における使用例は極めて少ない。Pembrolizumab の承認以前に、海外で行われた軟部組織肉腫および骨肉腫に対する Pembrolizumab の 相試験 (SARC028 ; Tawbi HA, et al. J Clin Oncol 2016)では、子宮平滑筋肉腫に対する奏功例が0%と不良であった。

癌発生や進行の機序には遺伝子変異を伴うものだけでなく、DNA メチル化やヒストン脱アセチル化などのエピジェネティックな異常の関与も重要な役割を果たし、DNA メチル化やヒストン修飾の異常は microRNA と呼ばれる低分子 RNA により制御されることが知られている。

子宮平滑筋肉腫の治療戦略にはゲノム変異情報のみを標的にした Precision Medicine には限界があり、より細やかな Personalized Medicine へ繋ぐためにはゲノム変異だけでなく、癌特性に大きな影響を及ぼすエピジェネティクスを新たに加味していく必要があると考えた。

### 2. 研究の目的

子宮平滑筋肉腫は摘出手術後に非常に早期に遠隔転移をきたすことがあり、上皮性悪性腫瘍とは異なった増殖、転移の機序が考えられる。また子宮平滑筋肉腫を含む軟部組織肉腫においては遺伝子変異が少なく、十分な効果をもつ分子標的薬やそのバイオマーカーの確立が急務となっている。2017年のTCGA報告では腫瘍浸潤免疫細胞や microRNA と予後の関係についても検討され、CD8 および NK 細胞が多いものほど良い予後を示し、平滑筋肉腫においても腫瘍免疫やエピジェネティクスが重要な役割を果たすことが示された。microRNA は mRNA のプロモーター領域で蛋白発現の調節を制御しており、癌の増殖において多様な働きをすることが知られている。その中でも細胞増殖やアポトーシスの誘導、癌細胞の浸潤や転移に関わる microRNA も報告されているが、子宮平滑筋肉腫においてその機序は明らかでない。その後 TCGA により 27 例の子宮平滑筋肉腫を含む、206 例の軟部組織肉腫の網羅的ゲノム解析が行われた (TCGA Research Network, Cell 2017)。その結果子宮平滑筋肉腫において、がん抑制遺伝子の TP53, RB1, PTEN に欠失や変異が認められるものの、neoantigen となりうる遺伝子変異量は低いことが明らかとなった。また 12 種類の microRNA が予後との相関を示したが詳細なメカニズムは明らかになっていない。腫瘍浸潤免疫細胞と予後についても検討され、子宮平滑筋肉腫においては腫瘍浸潤免疫細胞における CD8 および NK 細胞が多いものほど予後良好であった。しかしながらこれらの microRNA とその標的となる遺伝子および免疫細胞での発現蛋白や病理組織学的特徴との照合や予後との検討はなされていない。

そこで我々は子宮頸平滑筋肉腫に対してはゲノム変異だけでなく、microRNA による制御や DNA メチル化やヒストン脱アセチル化、ケモカインレセプターによる修飾などのエピジェネティックな変化を加味した治療法の開発が必要と考えた。遺伝子変異の少ない子宮平滑筋肉腫において、エピジェネティクスは癌の増殖に大きな関与をしている可能性があるが、未解明な部分が多い。

子宮平滑筋肉腫の詳細な標的遺伝子およびエピジェネティクス変化の解明及びバイオマーカーの確立を目指すとともに、最適な治療法の検証を行い、遺伝子変異の少ない子宮平滑筋肉腫において、診断および治療において革新的な向上をもたらすことを目標とした。

### 3. 研究の方法

我々の研究グループでは子宮平滑筋肉腫のエピジェネティクスに着目した革新的新規治療戦略の構築を試みた。具体的には子宮平滑筋肉腫の既存検体における既報の遺伝子変異およびケモカインレセプターの免疫組織染色および病理組織学的なデータと予後とを検討した。また子宮平滑筋肉腫細胞株における遺伝子変異について PCR にて確認した。

具体的には子宮平滑筋肉腫細胞(SK-LMS-1, SKN, RKN, TYLMS-1)及び、当科で手術を行った17症例の子宮平滑筋摘出病理検体を用いて、既報で示される遺伝子、RB1, TP53, PTEN とケモカインレセプターについて網羅的解析を行った。臨床予後については診療情報録を用いて情報収集し、カプランマイヤー法を用いて予後解析を行った。遺伝子解析については、細胞株においては培地で増殖させた細胞株より抽出した RNA を用いた RT-PCR を行った。検討項目はケモカインとして CCR1-11, CXCR1-6, XCR, CX3CR の発現を定量解析した。臨床検体については、病理切片から平滑筋肉腫の形質を示す凝固壊死、核異型を示す紡錘細胞の個数のとくに強い箇所が発現タンパクの免疫組織染色を行った。発現強度を定量化し評価を行った。

#### 4. 研究成果

いずれの子宮平滑筋肉腫細胞株においてもケモカインについては RT-PCR で有意に CXCR3 の高値を認めた。そのほかのケモカイン関連遺伝子の発現については明らかな傾向を認めなかった。患者検体の平滑筋肉腫を含む部位の免疫組織染色においても、正常平滑筋組織には認めない CXCR3 受容体の発現が多く認められた。しかし、これらとがん抑制遺伝子 TP53, RB1, PTEN の変異、欠失には明確な相関は認められなかった。また、臨床的予後は17症例中13例が再発、遠隔転移を起こしておりいずれも極めて不良であったため、予後予測マーカーとしては有用性を示すことはできなかった。今後、ケモカインレセプターの変化に加えたエピジェネティクスに注目したバイオマーカーの確立を目指していく予定である。具体的には、まず PTEN 変異に關与する因子として PI3K/Akt/mTOR シグナル伝達カスケードに対する

メトホルミン、アスピリンといった実臨床で使用が可能な薬剤成分の効果を検討する。

平滑筋肉腫細胞における炎症、免疫制御にかかわる他のエピジェネティックな変化としては、RNA 編集に着目した新規診断・治療戦略の確立を考えた。近年、転写された RNA において、特定の塩基が他の塩基へと変換される「RNA 編集」が発見され、DNA の塩基配列が絶対的なものではないことが徐々に認知されてきた。RNA 編集は様々な生体プロセスの制御に関わっており、核内だけでなく、ミトコンドリアでも RNA 編集が生じることが分かっている。また蛋白質をコードするメッセンジャー RNA ( mRNA ) だけでなく、トランスファー RNA ( tRNA )、リボソーム RNA ( rRNA )、マイクロ RNA ( miRNA ) などでも RNA 編集が起きることが知られている。ヒトの生体において最も高頻度に行っている RNA 編集は、A-to-I RNA 編集であり、内在性の RNA 編集酵素である 2 本鎖 RNA 特異的アデノシンデアミナーゼ ( Adenosine Deaminase Acting on RNA : ADAR ) によって、RNA 上のアデノシン ( A ) を脱アミノ化して、イノシン ( I ) に置換する編集である。研究グループで行っている別研究において、子宮体癌において RNA 編集酵素 ( ADAR1 ) 発現が増加し、A to I の RNA 編集部位はエキソン領域に位置する AZIN1 ( antizyme inhibitor 1 ) 遺伝子が増加し、細胞内におけるインターフェロン ( IFN ) に作用していることが認められ、子宮体癌における RNA 編集は癌患者の予後を予測するバイオマーカーとなるとともに、新たな癌治療のターゲットになることを報告したことから、子宮平滑筋肉腫細胞株においても同様の研究手法を行う予定としている。

平滑筋肉腫内は低酸素状態が誘導されており、この中での腫瘍細胞のアポトーシスに RNA 編集が関わっていると考え、細胞株に対して siRNA を用いて RNA 編集を阻害することで平滑筋肉腫の細胞周期を抑え、アポトーシス誘導を行う研究を予定している。

子宮平滑筋肉腫では血行性転移を起こしやすく、典型的には肺転移を手術で摘出することが多い。原発巣と肺転移病巣におけるケモカインレセプター、p53, RB1, PTEN 変異の差異についても更なる検証を進めていくとともに、今後新規臨床症例においては血液サンプルでのリキッドバイオプシーでの研究も継続して行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------