

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592450

研究課題名(和文) 難治性 Type I 子宮内膜癌の発癌機構解明とその臨床応用を目指した基礎的検討

研究課題名(英文) Identification of molecular pathway aberrations in uterine serous carcinoma by genome-wide analyses.

研究代表者

宮崎 康二 (Miyazaki, Kohji)

島根大学・医学部・教授

研究者番号：50145322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：欧米の報告では、子宮内膜癌全体の中で漿液性腺癌単独が占める割合は10%。我々のゲノムワイドな解析によると、クロマチンリモデリングに関連する体細胞変異が36.5%の頻度で存在した。また、TP53(81.6%)、PIK3CA(23.7%)、FBXW7(19.7%)、PPP2R1A(18.4%)の体細胞変異が見つかった。さらにPIK3CAの体細胞変異と遺伝子増幅は約50%の頻度で存在した。CCNE1をユビキチン化するFBXW7の体細胞変異とCCNE1の遺伝子増幅を併せると約50%の頻度で異常が存在し、PI3K/AKT経路、FBXW7/CCNE1経路が有望な治療標的となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the genomes of uterine serous carcinoma samples to better understand the molecular genetic characteristics of this cancer. Whole-exome sequencing was performed on 10 uterine serous carcinomas and the matched normal blood or tissue samples. We found frequent somatic mutations in TP53 (81.6%), PIK3CA (23.7%), FBXW7 (19.7%), and PPP2R1A (18.4%) among the 76 uterine serous carcinomas examined. All nine serous carcinomas that had an associated serous endometrial intraepithelial carcinoma had concordant PIK3CA, PPP2R1A, and TP53 mutation status between uterine serous carcinoma and the concurrent serous endometrial intraepithelial carcinoma component. DNA copy number analysis revealed frequent genomic amplification of the CCNE1 locus and deletion of the FBXW7 locus. Nearly half of these uterine serous carcinomas (48%) harbored PIK3CA mutation and/or PIK3CA amplification.

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：産婦人科学

キーワード：子宮体癌 ゲノムワイド がん遺伝子 がん抑制遺伝子

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜癌は婦人科領域で最も多い悪性腫瘍であり、米国では 2006 年には 41,000 例が子宮内膜癌と診断された。本邦でも、近年急速に罹患率が上昇している。これは食事、生活習慣の欧米化が原因と考えられている。子宮内膜癌には以下に述べる 2 つの臨床病理学的なサブタイプの存在が知られている。Type I: 類内膜癌 (endometrioid G1-G2)、エストロゲン依存性と考えられている。Type II: 類内膜癌 (endometrioid G3)、非類内膜癌 (serous, clear cell)、癌肉腫 (carcinosarcoma)、エストロゲン非依存性と考えられる。これらの癌の形態学的差異は、それぞれの分子遺伝学的な特徴を反映したものである。すなわち、Type I は DNA のミスマッチ修復の欠損と *PTEN*、*K-ras*、*β-catenin* の変異があり、Type II では染色体異数性と *p53* の変異が認められる。Type II 子宮内膜癌に関しては染色体異数性、*p53* の変異が認められることから、分子生物学的には卵巣癌に酷似している事が示唆される。卵巣癌は CIN(Chromosomal instability)の phenotype を示し、申請者らの研究グループはこれまでに、**Digital Karyotyping** を用いて複数の新規増幅癌遺伝子を発見してきた。また、Type II 子宮内膜癌は Type I に比して臨床的に予後不良であることから、早急に分子生物学的発癌機構の解明、新規分子標的薬剤の開発が期待される。

2. 研究の目的

臨床的に Type II 子宮内膜癌は極めて悪性の経過をとり致死性であるため、早急な分子生物学的特性の解明、新規分子標的薬剤の開発が望まれる。Type II 子宮内膜癌の分子生物学的特徴についての報告は極めて少なく、増幅癌遺伝子についての報告、新規分子標的因子の報告は我々の知る限りない。今回、我々はゲノムワイドに遺伝子増幅、欠失を検討できる **Digital Karyotyping** を用いて、難治性 Type II 子宮内膜癌特有の癌遺伝子【増幅遺伝子】を同定する事、さらに難治性子宮内膜癌発生機構の解明及び、新規分子標的薬剤開発のための標的癌遺伝子の機能解析を行う事を目的とした。

3. 研究の方法

難治性 Type II 子宮内膜癌の発生機構の分子生物学的解明および、その臨床応用へと展開していくため、本研究では以下の研究項目を予定している。

Digital Karyotyping を用いた Type II 子宮内膜癌特有の増幅癌遺伝子の同定、Validation

Type II 子宮内膜癌特有の新規癌遺伝子の細胞生物学的特性の解明

Type II 子宮内膜癌特有の新規癌遺伝子産物の臨床病理学的特性の解明

Type II 子宮内膜癌特有の新規癌遺伝子の機能解析 (制御遺伝子、パスウェイの検索)

4. 研究成果

我々のゲノムワイドな解析によると、クロマチンリモデリングに関連する体細胞変異が 36.5% の頻度で存在した。また、TP53(81.6%)、PIK3CA(23.7%)、FBXW7(19.7%)、PPP2R21A(18.4%)の体細胞変異が見つかった。さらに PIK3CA の体細胞変異と遺伝子増幅は約 50%の頻度で存在した。CCNE1 をユビキチン化する FBXW7 の体細胞変異と CCNE1 の遺伝子増幅を併せると約 50%の頻度で異常が存在し、PI3K/AKT 経路、FBXW7/CCNE1 経路が有望な治療標的となる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 24 件)

- 1 Rahman MT, Nakayama K, Rahman M, Ishikawa M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Sato E, Iida K, Nakayama N, Ishikawa N, Miyazaki K.: ESR1 gene amplification in endometrial carcinomas: A clinicopathological analysis. **Anticancer Res.**, 33: 3775-3781, 2013
- 2 Rahman MT, Nakayama K, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Sato E, Iida K, Nakayama N, Ishikawa N, Miyazaki K.: KRAS and MAPK1 gene amplification in type II ovarian carcinomas. **Int J Mol Sci.**, 14: 13748-13762, 2013
- 3 Rahman MT, Nakayama K, Ishikawa M, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Iida K, Miyazaki K.: Fatty acid synthase is

- a potential therapeutic target in estrogen receptor-/progesterone receptor-positive endometrioid endometrial cancer.
Oncology, 84: 166-173, 2013
- 4 Rahman M, Nakayama K, Rahman MT, Nakayama N, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Iida K, Otsuki Y, Nakayama S, Miyazaki K.: PPP2R1A mutation is a rare event in ovarian carcinoma across histological subtypes.
Anticancer Res., 33: 113-118, 2013
 - 5 Katagiri H, Nakayama K, Rahman MT, Rahman M, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Iida K, Nakayama S, Otsuki Y, Miyazaki K.: Is ATP7B a predictive marker in patients with ovarian carcinoma treated with platinum-taxane combination chemotherapy?
Int J Gynecol Cancer, 23: 60-64, 2013
 - 6 Rahman M, Nakayama K, Rahman MT, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Iida K, Miyazaki K.: Clinicopathological analysis of loss of AT-rich interactive domain 1A expression in endometrial cancer.
Hum Pathol., 44: 103-109, 2013
 - 7 Nishi T, Maruyama R, Urano T, Nakayama N, Kawabata Y, Yano S, Yoshida M, Nakayama K, Miyazaki K, Takenaga K, Tanaka T, Tajima Y.: Low expression of nucleus accumbens-associated protein 1 predicts poor prognosis for patients with pancreatic ductal adenocarcinoma.
Pathol Int., 62: 802-810, 2012
 - 8 Kuhn E, Wu RC, Guan B, Wu G, Zhang J, Wang Y, Song L, Yuan X, Wei L, Roden RB, Kuo KT, Nakayama K, Clarke B, Shaw P, Olvera N, Kurman RJ, Levine DA, Wang TL, Shih IeM.: Identification of molecular pathway aberrations in uterine serous carcinoma by genome-wide analyses.
J Natl Cancer Inst., 104: 1503-1513, 2012
 - 9 Yap KL, Fraley SI, Thiaville MM, Jinawath N, Nakayama K, Wang J, Wang TL, Wirtz D, Shih IeM.: NAC1 is an actin-binding protein that is essential for effective cytokinesis in cancer cells.
Cancer Res., 72: 4085-4096, 2012
 - 10 Rahman MT, Nakayama K, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Iida K, Nakayama S, Otsuki S, Miyazaki K.: Notch3 overexpression as potential therapeutic target in advanced stage chemoresistant ovarian cancer.
Am J Clin Pathol., 138: 535-544, 2012
 - 11 Rahman MT, Nakayama K, Ishikawa M, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Iida K, Yamada T, Miyazaki K.: NAC1, a BTB/POZ protein overexpressed in uterine sarcomas.
Anticancer Res., 32: 3841-3845, 2012
 - 12 Rahman MT, Nakayama K, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Iida K, Nakayama N, Otsuki Y, Nakayama S, Miyazaki K.: Gene amplification of ZNF217 located at chr20q13.2 is associated with lymph node metastasis in ovarian clear cell carcinoma.
Anticancer Res., 32: 3091-3095, 2012
 - 13 Rahman M, Nakayama K, Rahman MT, Nakayama N, Ishikawa M, Katagiri A, Iida K, Nakayama S, Otsuki Y, Shih IeM, Miyazaki K.: Clinicopathologic and biological analysis of PIK3CA mutation in ovarian clear cell carcinoma.
Hum Pathol., 43: 2197-2206, 2012
 - 14 Okazaki K, Nakayama N, Nariai Y, Nakayama K, Miyazaki K, Maruyama R, Kato H, Kosugi S, Urano T, Sakashita G.: Nuclear localization signal in a cancer-related transcriptional regulator protein NAC1.
Carcinogenesis, 33: 1854-1862,

2012

- 15 Rahman MT, **Nakayama K**, Rahman M, Katagiri H, Katagiri A, Ishibashi T, Ishikawa M, Iida K, Nakayama N, Otsuki Y, Nakayama S, **Miyazaki K**.: Fatty acid synthase expression associated with NAC1 is a potential therapeutic target in ovarian clear cell carcinomas. **Br J Cancer**, 107: 300-307, 2012
- 16 Katagiri A, **Nakayama K**, Rahman MT, Rahman M, Katagiri H, Ishikawa M, Ishibashi T, Iida K, Otsuki Y, Nakayama S, **Miyazaki K**.: Frequent loss of tumor suppressor ARID1A protein expression in adenocarcinomas/adenosquamous carcinomas of the uterine cervix. **Int J Gynecol Cancer**, 22: 208-212, 2012
- 17 Rahman MT, **Nakayama K**, Rahman M, Nakayama N, Ishikawa M, Katagiri A, Iida K, Nakayama S, Otsuki Y, Shih IeM, **Miyazaki K**.: Prognostic and therapeutic impact of the chromosome 20q13.2 ZNF217 locus amplification in ovarian clear cell carcinoma. **Cancer**, 118: 2846-2857, 2012 (査読あり)
- 18 Jones S, Wang TL, Kurman RJ, **Nakayama K**, Velculescu VE, Vogelstein B, Kinzler KW, Papadopoulos N, Shih IeM.: Low-grade serous carcinomas of the ovary contain very few point mutations. **J Pathol.**, 226: 413-420, 2012
- 19 Katagiri A, **Nakayama K**, Rahman MT, Rahman M, Katagiri H, Nakayama N, Ishikawa M, Ishibashi T, Iida K, Otsuki Y, Nakayama S, **Miyazaki K**.: Loss of ARID1A expression is related to shorter progression-free survival and chemoresistance in ovarian clear cell carcinoma. **Mod Pathol.**, 25: 282-288, 2012
- 20 Yeasmin S, **Nakayama K**, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, Katagiri A, Iida K, Nakayama N, Otsuki Y, Kobayashi H, Nakayama

S, **Miyazaki K**.: Biological and clinical significance of NAC1 expression in cervical carcinomas: a comparative study between squamous cell carcinomas and adenocarcinomas/adenosquamous carcinomas.

Hum Pathol., 43: 506-519, 2012

- 21 Iida K, **Nakayama K**, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, Katagiri A, Yeasmin S, Otsuki Y, Kobayashi H, Nakayama S, **Miyazaki K**.: EGFR gene amplification is related to adverse clinical outcomes in cervical squamous cell carcinoma, making the EGFR pathway a novel therapeutic target. **Br J Cancer**, 105: 420-427, 2011
- 22 Yeasmin S, **Nakayama K**, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, Katagiri A, Iida K, Nakayama N, **Miyazaki K**.: MKK4 acts as a potential tumor suppressor in ovarian cancer. **Tumour Biol.**, 32: 661-670, 2011
- 23 Shih IeM, **Nakayama K**, Wu G, Nakayama N, Zhang J, Wang TL.: Amplification of the ch19p13.2 NACC1 locus in ovarian high-grade serous carcinoma. **Mod Pathol.**, 24: 638-645, 2011
- 24 Yeasmin S, **Nakayama K**, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, Katagiri A, Iida K, Nakayama N, **Miyazaki K**.: Loss of MKK4 expression in ovarian cancer: a potential role for the epithelial to mesenchymal transition. **Int J Cancer**, 128: 94-104, 2011
- 〔学会発表〕(計3件)
1. **中山健太郎**、中山真美、石川雅子、片桐浩、片桐敦子、佐藤絵美、飯田幸司、Mohammed Tanjimur Rahman、Munmun Rahman、**宮崎康二**
卵巣癌における NAC1 pathway に基づいた創薬への展開、(婦人科がんにおけるトランスレーショナルリサーチ、シーズの探索から臨床応用まで)
第72回 日本癌学会学術総会、2013年10月3日、パシフィコ横浜、横浜市
2. **中山健太郎**、石川雅子、片桐浩、片桐

敦子、石橋朋佳、佐藤絵美、Mohammed
Tanjimur Rahman、Munmun Rahman、飯
田幸司、中山真美、宮崎康二

新規癌関連転写因子 NAC1 を標的とし
た卵巣癌治療法の開発、(卵巣癌の
Molecular Medicine)

第 54 回 日本婦人科腫瘍学会、2013 年 7
月 20 日、ホテルグランパシフィック LE
DAIBA、東京

3. 中山健太郎、

卵巣癌における NAC1/Gadd45/MKK4 経
路を介した腹膜播種機構の解明と阻害
剤開発による臨床応用、(婦人科癌の浸
潤・転移機構の解明と臨床応用)

第 65 回 日本産科婦人科学会学術講演
会、2013 年 5 月 10 日、ロイトン札幌(札
幌市)

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎 康二 (Kohji Miyazaki)

島根大学・医学部・教授

研究者番号: 50145322

(2) 研究分担者

中山 健太郎 (Kentaro

Nakayama)

島根大学・医学部・講師

研究者番号: 70346401

(3) 連携研究者

()

研究者番号: