

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462524

研究課題名(和文) 子宮頸部胃型腺癌の分子基盤の解明とそれに基づく治療方法の開発

研究課題名(英文) Molecular basis on carcinogenesis in gastric-type adenocarcinoma of the uterine cervix

研究代表者

須藤 保 (SUDO, TAMOTSU)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：50397824

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：(1) 子宮頸部胃型腺癌の細胞診上の特徴は monolayered and honeycomb sheets, vacuolar and/or foamy cytoplasm, intracytoplasmic neutrophil entrapment, vesicular nuclei with prominent nucleoli であった。(2) ハイリスクHPV感染は46例中10例(21%)であった。(3) 解析可能であった35例でマイクロサテライト不安定性は4例(11.4%)に検出された。(4) 次世代シーケンサーによる網羅的解析の結果、PDGFRA、APC、FLT3の変異が検出された。

研究成果の概要(英文)：(1) The characteristic cytologic findings of gastric-type adenocarcinoma of the uterine cervix (GAS) include monolayered and honeycomb sheets, vacuolar and/or foamy cytoplasm, intracytoplasmic neutrophil entrapment, and vesicular nuclei with prominent nucleoli. (2) High-risk HPVs were detected 10 of 46 cases of GAS (21%). (3) Mutations of PDGFRA (platelet-derived growth factor receptor alpha), APC (Adenomatous polyposis coli) and FLT3 (FMS-like tyrosine kinase 3) were identified in 3 cases of GAS via Next Generation Sequencing (NGS).

研究分野：医歯薬学

キーワード：子宮頸部胃型腺癌 ハイリスクHPV

#### 1. 研究開始当初の背景

ハイリスク型ヒトパピローマウイルス (hr-HPV) 検出と従来の頸部細胞診の組み合わせによる検診方法の確立されたこと、hr-HPV (主に 16, 18 型) に対するワクチンが我が国においても 2009 年に認可・接種が開始されたことにより hr-HPV に起因する子宮頸癌は理論上約 70%減少すると期待されている。しかし子宮頸癌は扁平上皮癌 (SCC 80%) と腺癌 (AC20%) に大別されるが、SCC ではほぼ全例 hr-HPV が検出される一方、AC では80%程度の検出率であり HPV に関連しない (HPV 非関連) 疾患群が存在する。さらに AC の前癌あるいは初期病変は現行の細胞診による子宮頸がん検診では検出は困難であり、検診ならびに予防ワクチンを「すりぬけた子宮頸部腺癌」の増加が予想される。AC は SCC に比べ、リンパ節や卵巣への転移率が高く、なおかつ放射線や化学療法に対して抵抗性を示すことから、SCC に比べて予後不良とされている。したがって今後子宮頸癌全体の罹患率は低下するが、難治性の AC が相対的に増加することが懸念され AC 特に HPV 非関連腫瘍に対する新たな診断方法・治療方法を開発する必要があったため、本研究の着想となった。

#### 2. 研究の目的

我々は HPV 非関連子宮頸癌の代表的な組織型である子宮頸部胃型腺癌 (GAC) に着目し、子宮頸癌において重要な診断法である頸部細胞診での形態評価法の確立、ならびに分子生物学的視点から hrHPV 関与の再評価ならびに発癌メカニズムの解明を目的とした。

#### 3. 研究の方法

兵庫県立がんセンターで 2001 年～2010 年に診断・治療を行った子宮頸部粘液性腺癌 121 例を分担研究者である病理専門医による再レビューを行い胃型腺癌 (GAC) と診断された合計 46 例の GAC をまず収集した。

(1) 子宮頸部細胞診の特徴の解明: 分担研究者 (病理専門医) により行った。

(2) GAC における hrHPV 検出: 臨床検体 (生検あるいは手術標本) からゲノム DNA を抽出し hrHPV に特異的なプライマーを作成、PCR による検出を行った。

(3) GAC のゲノム不安定性の評価: ゲノム不安定の一つのメカニズムであるマイクロサテライト不安定 (MSI) に着目した。臨床検体 (生検あるいは手術標本) から癌部ならびに正常部分からそれぞれゲノム DNA を抽出した。我々はマイクロサテライトマーカーである BAT25、BAT26、NR-21、NR-24、MONO-27 領域に対して、リアルタイム PCR 装置を用いた高解像度融解曲線分析 (HRM 法) で評価するアッセイ系を確立した。これによりスクリーニングを行い、最終確定は Promega 社 MSI キットを用いた電気泳動を行った。

(4) GAC における変異遺伝子の解析: GAC凍結検体3例を用いて Ion AmpliSeq™ Comprehensive Cancer Panel を用いた遺伝子変異の網羅的検出ならびに RNA-seq による融合遺伝子の検出を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 子宮頸部胃型腺癌の子宮頸部細胞診上の特徴は monolayered and honeycomb sheets, vacuolar and/or foamy cytoplasm, intracytoplasmic neutrophil entrapment, and vesicular nuclei with prominent nucleoli.であった。

(2) hrHPV 感染率は 46 例中 10 例 (21%) であった。

(3) 解析可能であった 35 例について、MSI-high (前述のサテライトマーカーのうち 2 つ以上と規定) は 4 例 (11.4%) に検出された。

(4) Ion AmpliSeq™ Comprehensive Cancer Panel の結果から 3 検体に共通している遺伝子変異として PDGF receptor alpha (PDGFRA)、APC (adenomatous polyposis coli) の coding 領域の変異、白血病のドライバー遺伝子として知られる FLT3 (FMS-like tyrosine kinase 3) の splice acceptor site の変異が検出された。

また RNA-seq により 3 検体とも共通しているものはなかったが、GAS7-SPEN、MECOM-PHC3 融合遺伝子が検出された。

#### 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 10 件)

A preoperative low cancer antigen 125 level ( $\leq 25.8$  mg/dl) is a useful criterion to determine the optimal timing of interval debulking surgery following neoadjuvant chemotherapy in epithelial ovarian cancer. Morimoto A, Nagao S, Kogiku A, Yamamoto K, Miwa M, Wakahashi S, Ichida K, Sudo T, Yamaguchi S, Fujiwara K. Jpn J Clin Oncol. 2016 Jun;46(6):517-21.

Diagnosis of desmoplastic small-round-cell tumor by cytogenetic analysis: a case report. Wakahashi S, Sudo T, Ichida K, Sugita S, Hasegawa T, Nagao S, Yamaguchi S, Sakuma T, Yamada H. Clin Case Rep. 2016 Apr 15;4(5):520-3.

Boron neutron capture therapy (BNCT) as a new approach for clear cell sarcoma (CCS) treatment: Trial using a lung metastasis model of CCS. Andoh T, Fujimoto T, Suzuki M, Sudo T,

Sakurai Y, Tanaka H, Fujita I, Fukase N, Moritake H, Sugimoto T, Sakuma T, Sasai H, Kawamoto T, Kirihata M, Fukumori Y, Akisue T, Ono K, Ichikawa H. Appl Radiat Isot. 2015 Aug 21. pii: S0969-8043(15)30152-4.  
Potential of boron neutron capture therapy (BNCT) for malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNST). Fujimoto T, Andoh T, Sudo T, Fujita I, Fukase N, Takeuchi T, Sonobe H, Inoue M, Hirose T, Sakuma T, Moritake H, Sugimoto T, Kawamoto T, Fukumori Y, Yamamoto S, Atagi S, Sakurai Y, Kurosaka M, Ono K, Ichikawa H, Suzuki M. Appl Radiat Isot. 2015 Aug 3  
Cytologic features of gastric-type adenocarcinoma of the uterine cervix. Kawakami F, Mikami Y, Sudo T, Fujiwara K, Hirose T, Itoh T. Diagn Cytopathol. 2015 Oct;43(10):791-6.  
Unique roles of estrogen-dependent Pten control in epithelial cell homeostasis of mouse vagina. Miyagawa S, Sato M, Sudo T, Yamada G, Iguchi T. Oncogene. 2015 Feb 19;34(8):1035-43  
Transcriptional CCND1 expression as a predictor of poor response to neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab in HER2-positive/ER-positive breast cancer. Tanioka M, Sakai K, Sudo T, Sakuma T, Kajimoto K, Hirokaga K, Takao S, Negoro S, Minami H, Nakagawa K, Nishio K. Breast Cancer Res Treat. 2014 Oct;147(3):513-25.  
Inhibition of Cell Death and Induction of G2 Arrest Accumulation in Human Ovarian Clear Cells by HNF-1 Transcription Factor: Chemosensitivity Is Regulated by Checkpoint Kinase CHK1. Shigetomi H, Sudo T, Shimada K, Uekuri C, Tsuji Y, Kanayama S, Naruse K, Yamada Y, Konishi N, Kobayashi H. Int J Gynecol Cancer. 2014 Jun;24(5):838-43  
Alpha-fetoprotein-producing ovarian clear cell adenocarcinoma simulating fetal gut in a postmenopausal woman. Akemi Morimoto, Tamotsu Sudo, Toshiko Sakuma, Masanori Yasuda, Kiyoshi Fujiwara Gynecologic Oncology Reports 8 (2014) 24-26  
Boron neutron capture therapy as new treatment for clear cell sarcoma: Trial on different animal model. Andoh T, Fujimoto T, Sudo T, Suzuki M, Sakurai Y, Sakuma T, Moritake H, Sugimoto T, Takeuchi T, Sonobe H,

Epstein AL, Fukumori Y, Ono K, Ichikawa H. Appl Radiat Isot. 2014 Jun;88:59-63

〔学会発表〕(計5件)

藤本 卓也、佐久間 淑子、須藤 保、牛尾 伊佐子、安藤 徹、藤田 郁夫、今堀 正也、北山 和道、河本 旭哉、市川 秀喜、鈴木 実、廣瀬 隆則 明細胞肉腫はL型アミノ酸トランスポーター1 (LAT1) を発現する (第13回日本中性子捕捉療法学会学術大会平成28年8月6日 東京)

安藤 徹、藤本 卓也、和田 恵二郎、内田 裕樹、須藤 保、盛武 浩、福森 義信、市川 秀喜 明細胞肉腫細胞のL-BPA 取込とL型アミノ酸トランスポーター1 発現の関連について (第13回日本中性子捕捉療法学会学術大会平成28年8月6日 東京)

須藤保・岡智子・山本香澄・三輪真唯子・森本明美・若橋宣・市田耕太郎・山口聡・長尾昌二・藤原潔・吉田智一 HPLC/HPV L1 遺伝子のメチル化状態を指標とした子宮頸部上皮内病変の進展予測(第31回日本産婦人科感染症研究会学術集会平成26年6月8日 神戸)

重富洋志・植栗千陽・伊東史学・棚瀬康仁・春日祥治・金山清二・川口龍二・吉田昭三・古川直人・大井豪一・小林浩・須藤保 子宮内膜症性嚢胞におけるCD44v9の発現と活性酸素抵抗性(第66回日本産科婦人科学会学術講演会平成26年4月18日 東京)

Maki Tanioka, Kazuko Saka, Tamotsu Sudo, Toshiko Sakuma, Koichi Hirokaga, Shintaro Takao, Shunichi Negoro, Hironobu Minami, Kazuhiko Nakagawa, Kazuto Nishio Transcriptional expression of BCL-2 as predictive of response to neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab in HER2-positive ER-positive breast cancer patients (ASCO annual meeting 2014. May 30 Chicago)

〔図書〕(計0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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須藤 保 (SUDO Tamotsu)  
神戸大学・医学系研究科・医学研究員  
研究者番号：50397824

(2) 研究分担者

森永 友紀子 (MORINAGA Yukiko)  
神戸大学・医学部附属病院・特命助教  
研究者番号：20729404