

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02946

研究課題名(和文) 卵巣粘液性癌の起源およびdriver geneの同定と発癌機構の解明

研究課題名(英文) Identification of molecular mechanisms of ovarian mucinous carcinogenesis

研究代表者

京 哲 (KYO, SATORU)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授

研究者番号：50272969

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では卵巣粘液性癌の発生機序を明らかにするために、粘液性癌(MC)16例、粘液性境界悪性腫瘍(MBT)10例、粘液性良性腫瘍(MA)14例の手術摘出標本を用いて遺伝子変異解析を行った。その結果、KRAS遺伝子変異がMCの44%に、MBTの20%に、MAの0%に認められた。また、BRAF遺伝子変異がMCの0%、MBTの40%、MAの0%に認められた。以上の結果からBRAF変異はMBTに特徴的な変化で、MAからの進展に参与し得ること、一方、MCへの進展には参与せず、BRAF変異を有するMBTはMCへと進展しないこと、またKRAS変異を有するMBTはMCへと進展する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上皮性卵巣癌の主要な組織型の中で、粘液性癌は最も予後が悪く、有効な治療法が確立されていない。本研究では卵巣粘液性癌の発症に参与する癌遺伝子変異を明らかにした。また粘液性癌の前癌病変である境界悪性腫瘍に特徴的な遺伝子変異も明らかにし、境界悪性腫瘍から悪性へと進展するケース、あるいは境界悪性腫瘍のままに留まるケースが特定の遺伝子変異によって規定されている可能性を明らかにした。これらの成果は、腫瘍の遺伝子解析による予後予測と、腫瘍発症予防や治療薬の開発に応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated the genetic alterations of ovarian mucinous carcinoma (MC), borderline tumor (MBT) and benign cyst adenoma (MA) using surgically specimens. The sequencing analyses revealed frequent BRAF mutations in MBT, but not MC or MA, while KRAS mutations were frequent in MC, less frequent in MBT and none in MA. These findings indicate that BRAF mutation is involved in the development of MBT while MBT with such mutations has low potential to develop MC. In contrast, KRAS mutation is a key factor to the development of MC from MBT.

研究分野：婦人科腫瘍学 分子生物学、分子病理学

キーワード：卵巣粘液性癌 粘液性境界悪性腫瘍 遺伝子変異 KRAS BRAF

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

上皮性卵巣癌は組織型から漿液性癌、類内膜癌、明細胞癌、粘液性癌に分類される。粘液性癌はこの中で最も予後が悪く、手術+既存抗がん剤による定型的治療では十分な治療成績は得られていない。そこで有効な分子標的治療の開発が切望されている。

発がんメカニズムの一つに ERK(Extracellular signal-regulated kinase)シグナル経路の異常が報告されている。中でも BRAS(v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B)の変異に近年注目が集まっている。粘液性癌の発生には KRAS 遺伝子変異が 50-60%程度報告されているが、BRAS 変異については 0~20%程度と発がんに関与しているか否かは明らかとなっていない。またこれらの変異頻度の報告は欧米の報告が主体であり、我が国の報告は極めて少ない。

卵巣癌は他の癌種と異なり、多くが外来臓器に由来する癌である。その起源は Müller 管由来の婦人科臓器である子宮や卵管が想定される。すでに漿液性癌は卵管上皮由来、類内膜癌は内膜由来、明細胞癌はアリアステラ反応(内膜)に形態が酷似していることから内膜由来と言われ、分子生物学的にも証明されつつある。一方、粘液性癌は子宮頸部に頸管腺が存在するものの、形態的には腸管に近いものも多く、その起源は全くわかっていない。起源が不明のため、発癌分子機構解析が進まず、分子標的治療薬の開発にも目途が立っていない。

2. 研究の目的

粘液性癌は良性粘液性腺腫~境界悪性腫瘍を経て段階的に進展すると考えられている。粘液性癌の発癌メカニズム解明を目指した従来の研究は、癌の臨床病理検体を用いて既知の癌遺伝子および癌抑制遺伝子をターゲットシーケンスし、変異を同定する手法が主であった。粘液性腺腫や境界悪性などの前癌病変の解析研究はごく少数であり、一定のコンセンサスは得られていない。そこで本研究では粘液性癌(MC)、境界悪性腫瘍(MBT)、良性粘液性腺腫(MA)の各病変の手術摘出材料を用いて遺伝子変異解析を行い、各群に特徴的な遺伝子変異を同定することとした。

3. 研究の方法

各病変の手術摘出標本のパラフィン包埋切片から、microdissectionの手法により当該病変を分離、純化し、DNAを回収した。既報から頻度が高いと予想される遺伝子として KRAS, BRAF, PIC3CA、さらに幅広い癌腫で変異が報告される p53 遺伝子に注目し、これらの遺伝子に関して Sanger 法にて変異解析を行った。

4. 研究成果

解析に用いた症例の臨床病理学的背景を Table1 に示す。

Table 1 The number of each mucinous tumors

Histological diagnosis	Carcinoma	Borderline tumor	Cystadenoma	P value
Total No. of cases	16	10	12	
Age	59.6 ± 16.3 (25–81)	56.5 ± 20.0 (18–84)	58.0 ± 18.2 (26–80)	
Stage				
I	11	10		
II	2	0		
II	2	0		
IV	1	0		
Early stage (stage I, II)	81.3%			
Advanced stage (stage III, IV)	18.8%			
Grade				
I	8			
II	6			
III	2			
CA125 (U/ml)	121.2 ± 140.2 (8–458)	28.0 ± 20.0 (7–62)	81.9 ± 211.9 (6–749)	0.285* 0.773† 0.681‡
CA19-9 (U/ml)	1913.7 ± 6337.8 (1–24,780)	44.0 ± 56.5 (6–200)	70.2 ± 159.0 (8.3–546)	0.514* 0.504† 0.999‡

粘液性癌(MC)では約8割がstage I, IIの早期症例で進行期症例は2割以下であった。漿液性がんとなり、腹膜播種や進行期症例が少ない粘液性癌の特徴が反映されていた。MC16例、粘液性境界悪性腫瘍(MBT)10例、粘液性良性腫瘍(MA)14例の手術摘出標本にて遺伝子変異解析を行った。変異解析の結果をTable2に示す。

KRAS 遺伝子変異がMC 16例中の7例(44%)に、MBT 10例中2例(20%)に、MA 12例中の0例(0%)に認められた。また、BRAF 遺伝子変異がMC16例中の0例(0%)、MBT 10例中4例(40%)、MA 12例中の0例(0%)に認められた。p53 遺伝子変異は全ての症例において認められなかった。PIK3CA 遺伝子変異はMCの1例においてのみ認められた。KRAS 遺伝子変異はMCで極めて高頻度で、MBTにおいては、統計解析ではMAよりも有意に多い傾向があった(p=0.066, Chi square test)。また BRAF 遺伝子変異はMCには一例もなく、統計解析でも有意差を持って MBT に多かった(p=0.042, Chi square test)。

以上の結果から BRAF 変異は MBT に特徴的な変化で、MAからの進展に関与する可能性があること、一方、MCへの進展には関与せず、むしろ BRAF 変異を有する MBT は MBT で留まり、MCへと進展しないこと、また KRAS 変異を有する MBT は MC へと進展する可能性が示唆された。

BRAF は ERK 経路の主要な伝達因子であり、本シグナル伝達系を活性化し、通常腫瘍の増殖、進展に関わると考えられてきた。しかし最近では CDKN2A(p16)にコードされる癌抑制遺伝子が欠失している melanoma では V600E BRAF 変異がある場合、腫瘍の進展がむしろ抑制されるとの報

Table 2 Genetic alterations in mucinous ovarian tumors

No	Hystotype	KRAS	BRAF	TP53	PIK3CA
1	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
2	Carcinoma	G13D	WT	WT	E545K
3	Carcinoma	G13D	WT	WT	WT
4	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
5	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
6	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
7	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
8	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
9	Carcinoma	G12D	WT	WT	WT
10	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
11	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
12	Carcinoma	G12D	WT	WT	WT
13	Carcinoma	WT	WT	WT	WT
14	Carcinoma	G12D	WT	WT	WT
15	Carcinoma	G13D	WT	WT	WT
16	Carcinoma	G12D	WT	WT	WT
17	Borderline tumor	WT	V600E	WT	WT
18	Borderline tumor	WT	WT	WT	WT
19	Borderline tumor	WT	WT	WT	WT
20	Borderline tumor	G12D	V600E	WT	WT
21	Borderline tumor	WT	WT	WT	WT
22	Borderline tumor	WT	V600E	WT	WT
23	Borderline tumor	WT	WT	WT	WT
24	Borderline tumor	G12D	V600E	WT	WT
25	Borderline tumor	WT	WT	WT	WT
26	Borderline tumor	WT	WT	WT	WT
27	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
28	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
29	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
30	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
31	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
32	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
33	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
34	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
35	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
36	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
37	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT
38	Cystadenoma	WT	WT	WT	WT

告があり、実際に MC では CDKN2A の欠失が高頻度に報告されている。したがって MC において BRAF 変異は進行の抑制に働く因子である可能性があり、BRAF 変異を有する MBT が MC に進展しない分子生物学的機序となっている可能性がある。本研究の成果の臨床上的応用点としては、MBT 患者の BRAF 変異が悪性度を評価するバイオマーカーとなる可能性があり、術後の補助療法の適用を考慮する指標となり得るかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ohnishi K, Nakayama K, Ishikawa M, Ishibashi T, Yamashita H, Nakamura K, Minamoto K, Iida K, Sultana R, Ishikawa Na, and Kyo S.	4. 巻 302
2. 論文標題 Mucinous borderline ovarian tumors with BRAFV600E mutation may have low risk for progression to invasive carcinomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of Gynecology and Obstetrics	6. 最初と最後の頁 487-495
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00404-020-05638-8	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 Ishikawa M, Nakayama K, Nakamura K, Ono R, Yamashita H, Ishibashi T, Minamoto T, Iida K, Razia S, Ishikawa N, Kyo S.	4. 巻 85
2. 論文標題 High frequency of POLE mutations in synchronous endometrial and ovarian carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hum Pathol	6. 最初と最後の頁 92-100
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.humpath.2018.11.001.	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 Nakayama N, Sakashita G, Nariyai Y, Kato H, Sinmyozu K, Nakayama JI, Kyo S, Urano T, Nakayama K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Cancer-related transcription regulator protein NAC1 forms a protein complex with CARM1 for ovarian cancer progression	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 28408-28420
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.25400	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 Kyo S, Ishikawa N, Nakamura K, Nakayama K	4. 巻 9
2. 論文標題 The fallopian tube as origin of ovarian cancer: Change of diagnostic and preventive strategies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 421-431
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.2725.	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 mori H, Sawada K, Kurose S, Mahmud HM, Razia S, Iida K, Ishikawa N, Kyo S.	4. 巻 12
2. 論文標題 11.Prognostic Value of Peripheral Blood Lymphocyte Telomere Length in Gynecologic Malignant Tumors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers (Basel).	6. 最初と最後の頁 E1469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12061469	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 Yamashita H, Nakayama K, Ishikawa M, Ishibashi T, Nakamura K, Sawada K, Yoshimura Y, Tatsumi N, Kurose S, Minamoto T, Iida K, Razia S, Ishikawa N, Kyo S.	4. 巻 20
2. 論文標題 Relationship Between Microsatellite Instability, Immune Cells Infiltration, and Expression of Immune Checkpoint Molecules in Ovarian Carcinoma: Immunotherapeutic Strategies for the Future.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int.J.Mol Sci	6. 最初と最後の頁 512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20205129.	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 -

〔学会発表〕 計7件(うち招待講演 4件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉村由紀 中山健太郎、石川雅子、石橋朋佳、山下瞳、澤田希代加、黒瀬苑水、京哲
2. 発表標題 癌遺伝子パネル検査におけるgenetic heterogeneityへの対応
3. 学会等名 第6回中日本産婦人科セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村由紀 中山健太郎、中村康平、石川雅子、石橋朋佳、山下瞳、澤田希代加、辰巳渚、黒瀬苑水、京哲
2. 発表標題 Genetic heterogeneityがprecision medicineに与える影響
3. 学会等名 第61回日本婦人科腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 京哲
2. 発表標題 卵巣がんを巡る最新情報
3. 学会等名 第281回広島市臨床産婦人科医会研修会 特別講演（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 京哲
2. 発表標題 卵巣がんのoriginを考える
3. 学会等名 平成30年度岡山産婦人科専門医会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 京哲
2. 発表標題 婦人科癌を巡る最近の話題
3. 学会等名 広島県北部産婦人科医会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 婦人科癌治療において知っておくべきゲノム関連情報
2. 発表標題 婦人科癌治療において知っておくべきゲノム関連情報
3. 学会等名 Ovarian Cancer Scientific Exchange Meeting 2020 in Okayama（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大西薫、中山健太郎、中村康平、石橋朋佳、山下瞳、小野瑠璃子、笹森博貴、Razia Sulutana, 飯田幸司、京哲
2. 発表標題 卵巣粘液性癌の発癌機構の解明～粘液性癌はType3か？
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2018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
---------	---------