

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10716

研究課題名(和文)リンパ腫から見つかった「がん抑制遺伝子」が子宮体癌の治療戦略を変える。

研究課題名(英文)Transformed follicular lymphoma (TFL) predicts outcome in advanced endometrial cancer

研究代表者

若橋 宣 (Wakahashi, Senn)

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：80596651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：【目的】Transformed follicular lymphoma (TFL)は新規がん抑制遺伝子の候補として、濾胞性リンパ腫が悪性転化する際に欠失する染色体部位から発見された。我々はTFLの進行子宮体癌におけるがん抑制因子としての役割を検討する目的でTFL発現と予後との関係を検討した。【成績】TFL negative: 19症例(18%)の無再発生存率はTFL positive: 84症例(81%)に比べて不良であった。【結論】TFLは子宮体癌の予後予測マーカーの候補と考えられ、その機能解明が子宮体癌の治療戦略に新たな可能性を提供できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Background: Transformed follicular lymphoma (TFL) was identified, as a candidate tumor suppressor gene that contributes to cell-cycle arrest through regulation of Rb phosphorylation, but the clinical impact of TFL is unknown. The goal of this study was to evaluate the prognostic significance of TFL expression in advanced endometrial cancer. Results: There were 24 TFL-low cases (23.3%) and the 10- PFS and OS in these cases were lower than those for patients with normal TFL expression in univariate analysis (PFS, $P = .003$; OS, $P = .106$). In multivariate analysis, TFL status was a significant predictor for PFS (HR 2.76, 95% CI 1.45-5.28; $P = .002$) and OS (HR 1.94, 95% CI 0.91-4.11; $P = .085$). Among 41 ER -low patients, 10-year PFS was significantly lower in 15 TFL-low cases (multivariate analysis, HR 4.70, 95% CI 1.68-13.20, $P = .003$). Conclusions: We identified TFL as a strong independent prognostic factor, regardless of ER status.

研究分野：婦人科悪性腫瘍

キーワード：子宮体癌 TFL エストロゲン受容体 バイオマーカー

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

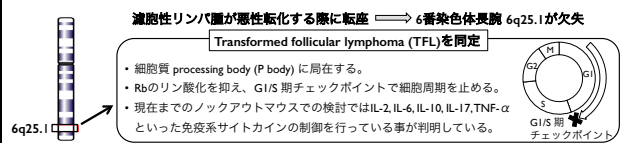
1. 研究開始当初の背景

子宮体癌は全婦人科癌関連死亡の30%を占める最も一般的な婦人科悪性腫瘍である。ほとんどの患者(75%)は、FIGO stage I, IIの早期癌で診断され、5年間の全生存率(OS)は74~91%である。しかしFIGO stage III, IV期の進行子宮体癌は予後不良疾患であり解析対象とした10年生存率はIII期56%およびIV期27%である。子宮体癌がどのようなシグナル伝達経路を利用して増殖、浸潤していくのかは不明な点も多く、分子標的治療も未だ臨床応用には至っていない。子宮体癌の分子マーカーはこれまでも報告されているが、ほとんどの分子マーカーの有用性は早期癌に限定されており、組織型等の臨床病理学的背景と関連している。そのため治療方針は組織型、子宮筋層浸潤、腹水細胞診、子宮頸部間質浸潤、および尿管侵襲を含む病理学的所見と組み合わせたFIGO stageおよびTNM分類によって決定されており、分子マーカーは治療方針決定には使用されていない。

Transformed follicular lymphoma (TFL)の発見と機能解析

2007年に申請者らは、低悪性度濾胞性リンパ腫から中高度悪性群のびまん性大細胞型B細胞リンパ腫への形質転換の際に出現した染色体転座に注目した(Minagawa et al. Br J Haematol. 2007)。2009年にはこの転座から欠失する6番染色体長腕6q25.1から世界で初めてTFLを同定し機能解析を行った。その結果、TFLタンパクが細胞質のprocessing bodyに局在し、Rbタンパクのリン酸化を抑えることで細胞周期を制御している事を発見した。更にTFLタンパク発現のない白血病細胞株にTFLタンパクを発現させると細胞の増殖が抑えられ、アポトーシスが誘導されたことから、新規「がん抑制遺伝子」の候補となることを報告した(Minagawa et al. Mol Cancer Res. 2009)。

2014年にはTFLノックアウトマウスで、TFLタンパクがIL-2, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α といったサイトカインのmRNA制御を行っていることを明らかにした(Minagawa et al. J Immunol. 2014)。現在TFLはC3H型Zn-fingerモチーフを有する4つのZC3H12 familyの1つ(ZC3H12D)とされている。当初新規「がん抑制遺伝子」の候補として発見されたTFLであるが、ヒトにおいては血球系以外での発現は検討されたことがなく、癌臨床検体を用いての予後解析はされたことがなかった。

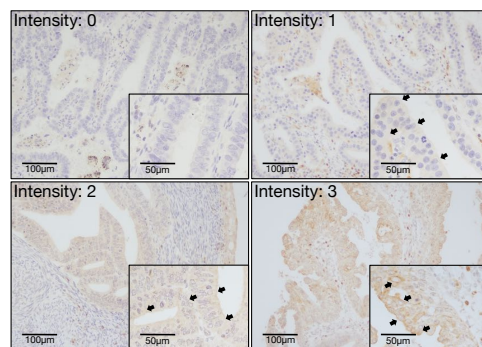


2. 研究の目的

本研究では申請者らのグループが2009年に同定したTransformed follicular lymphoma (TFL)の子宮体癌に対する「がん抑制遺伝子」としての機能に注目した。TFLタンパク発現の低下が進行子宮体癌の予後不良因子となることを明らかにし、臨床応用へ展開するための研究基盤を確立することを研究目標とした。

3. 研究の方法

進行子宮体癌103症例のTFLタンパク発現を免疫組織染色でスコア化することで評価した。予後は単変量解析および多変量解析で検証をした。

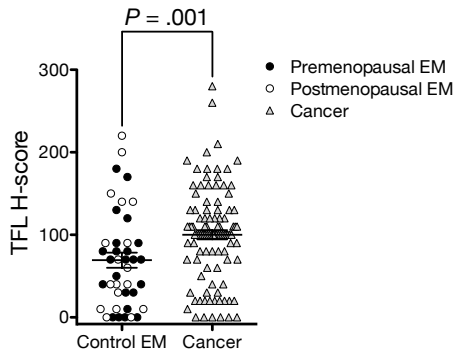


Immunohistochemical staining showing intensity of TFL expression in the cytoplasm of endometrial cancer cells. The arrow shows representative staining intensity. TFL H-Score = 0 \times % of tumor cell stained + 1 \times % of tumor cell stained + 2 \times % of tumor cell stained + 3 \times % of tumor cell stained TFL H-score ≤ 60 was defined as indicating low TFL expression status

4. 研究成果

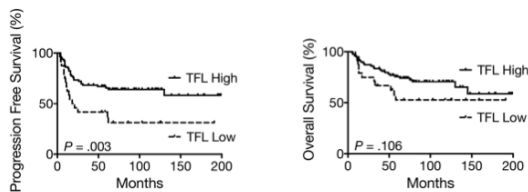
【TFL は癌組織で高発現する】

正常子宮内膜の、TFL タンパク発現は子宮体癌組織よりも低いことが明らかになった。このことはTFL タンパクが発癌にともなって発現し、機能を果たす可能性を示唆している。



【TFL は進行子宮体癌の予後因子となる】

TFL 発現は正常子宮内膜 TFL 高発現群 (79 症例) に比べて TFL 低発現群 (24 症例) の Progression Free Survival (PFS) は不良であり、また TFL 発現は子宮体癌の予後因子である年齢、FIGO stage、組織型、筋層浸潤、腹水細胞診とは相関していなかった。



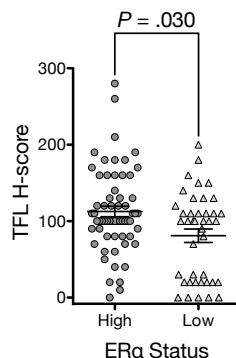
Kaplan-Meier curves for progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) based on TFL expression status.

Univariate and multivariate analysis of estimated progression-free survival and overall survival based on TFL expression status.

Survival	TFL Status	Number of Patients	Univariate Analysis		P	Multivariate Analysis	
			5 years (95% CI)	10 years (95% CI)		Hazard ratio (95% CI)	P
PFS	High	79	66% (56-77)	64% (54-76)	.003	1.00 (reference)	.002
	Low	24	42% (26-67)	31% (17-58)		2.76 (1.45-5.28)	
OS	High	79	76% (67-86)	71% (61-82)	.106	1.00 (reference)	.085
	Low	24	53% (36-78)	53% (36-78)		1.94 (0.91-4.11)	

【TFL は Estrogen receptor (ER α) と相関する】

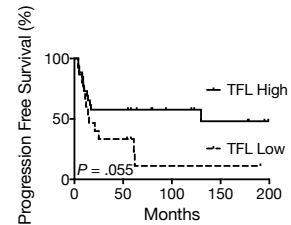
ER α 遺伝子 (ESR1) と TFL の染色体部位 (6q25. 1) は非常に近接しており、また ER α 低発現症例は子宮体癌の中でも予後



不良と考えられている。この ER α 低発現症例における TFL 発現は有意に低く

(Mann-Whitney U test, $P = .030$)、ER α 低発現症例のみの検討でも TFL は独立した予後因子であった ER α 発現低下には染色体ヘテロ接合性の消失が関与することも指

摘されており、予後不良因子としての背景に TFL との染色体部位近接性が関与する可能性が示唆された。



Kaplan-Meier curves for progression-free survival based on TFL expression status in estrogen receptor alpha (ER α)-low cases.

Univariate and multivariate analysis of estimated progression-free survival based on TFL expression status in estrogen receptor alpha (ER α)-low cases.

TFL Status	Number of Patients	Univariate Analysis		P	Multivariate Analysis	
		5 years (95% CI)	10 years (95% CI)		Hazard ratio (95% CI)	P
High	26	58% (42-80)	58% (42-80)	.055	1.00 (reference)	.003
Low	15	33% (16-68)	11% (2-64)		4.70 (1.68-13.20)	

ER α 発現低下は乳癌においても重要な予後因子でありながら、その分子生物学的意義に関しては明確ではなかった。TFL の機能解明は子宮体癌だけでなく、乳癌などのホルモン依存性腫瘍の治療戦略に新たな可能性を提供できるものとする。

【考察】

子宮体癌は近年増加傾向にあり、疾患背景の個別化とそれに合わせた分子標的の探索、治療薬開発は重要な課題となっている。今回の研究成果は子宮体癌治療の重要な分岐点となる可能性がある。前述のように TFL は第 6 番染色体の ZC3H12D にコードされ、C3H 型 Zn-finger モチーフを有する他の 3 つの遺伝子とファミリーを形成しているが、Family 内の別分子である ZC3H12A は miRNA の制御に関わっている事が報告されている (Suzuki et al. Mol Cell. 2011)。また、成熟型の miRNA は Argonaute, GW182 といった分子と複合体を形成し、細胞質の processing body に局在することが明らかになっている (Eulalio et al. Nat Rev Mol

Cell Biol. 2007)。TFL タンパクは、まさにこの processing body に局在している可能性が見出されている。TFL タンパクが miRNA を介して癌細胞を制御している可能性があり、本研究は将来の miRNA を標的とした創薬に展開されることも期待される。TFL タンパクの発現調節機構の解明は発癌メカニズムに新たな知見を提供できる可能性があり、得られた知見をもとにした大規模な臨床試験を行う事で新規バイオマーカーとして治療方針、再発リスクの評価に有用性を見出せる可能性が期待される。TFL 研究は申請者らのグループが中心となって展開されてきたが、上皮性悪性腫瘍での研究は今回が初めてである。子宮体癌での研究が上皮性悪性腫瘍と TFL との普遍的関係を探究する基盤となり、世界に先駆けて新しい知見を報告できたのではと考えている。

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 1 件)

- ① Wakahashi, S., F. Kawakami, K. Wakahashi, K. Minagawa, K. Matsuo, Y. Katayama, H. Yamada, T. Matsui and T. Sudo (2018). "Transformed follicular lymphoma (TFL) predicts outcome in advanced endometrial cancer." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* in Press.

[学会発表] (計 2 件)

- ① Transformed follicular lymphoma as a novel prognostic biomarker for endometrial cancer. (第 69 回日本産科婦人科学会学術講演会 2017 年 4 月 広島)
- ② 新規がん抑制遺伝子 Transformed follicular lymphoma (TFL) は子宮内膜がんの予後 因子となるか? (第 59 回日

本婦人科腫瘍学会学術講演会 2017 年 7 月 熊本)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

若橋 宣 (Wakahashi Senn)
神戸大学・医学研究科・助教
研究者番号：80596651

(2) 研究分担者

皆川 健太郎 (Minagawa Kentaro)
神戸大学・医学研究科・医学研究員
研究者番号：80432574

(3) 連携研究者

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
片山 義雄 (Katayama Yoshio)
神戸大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：80397885
松尾 恵太郎 (Matsuo Keitaro)
愛知県がんセンター研究所・がん予防研究部分野・分野長
研究者番号：80393122

(4) 研究協力者

川上 史 (Kawakami Fumi)
神戸大学・医学部附属病院・特定助教
研究者番号：40565678

