

令和元年6月20日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11127

研究課題名(和文) 子宮体癌におけるリンチ症候群の識別戦略と管理指針の考案

研究課題名(英文) Devise of identification strategy and management guidelines for Lynch syndrome in endometrial cancer

研究代表者

佐藤 直樹 (Sato, Naoki)

秋田大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：40447199

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)：子宮体癌(EC)360例を対象にリンチ症候群(LS)識別研究を実施した。ミスマッチ修復(MMR)蛋白に対する免疫染色と選択的メチル化解析を行い、選出された「LS疑い」例に遺伝学的検査を加えてLSを識別した。研究過程において、PMS2蛋白単独欠損がMLH1プロモーター領域の高メチル化によって引き起こされることを発見し、遺伝学的傍証を添えて専門誌に報告した。LS様の分子学的特徴を示すが生殖細胞系列のMMR遺伝子に病的変異を認めない「Lynch-like例(LL)」の臨床像を捉えることを派生の課題とした。研究計画の完遂により、アジア人EC例におけるLSとLLの分布・特徴・地域性を専門誌に詳報した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は参加した子宮体癌患者とその家族への検診勧奨として実地還元されている。考案されたスクリーニング戦略はLS患者とLS家系の適切な臨床識別を導いてゆく。本研究で得られた疫学的成果は、遺伝性子宮体がん診療ガイドライン構築の根拠として日本の医療と社会福祉に貢献する。LSと診断された患者本人と近親血縁者に対する予知的で効果的な検診と予防的医療の展開により、遺伝性癌の予防と早期発見を導き、関連癌の発生率と死亡率をともに低減させる。医療的介入の選択と集中により社会的損失を回避し、社会保障全体としての費用削減にも貢献する。

研究成果の概要(英文)：A Lynch syndrome (LS) identification study in 360 cases of endometrial cancer (EC) was conducted. Immunostaining of mismatch repair (MMR) proteins and selective methylation analysis were performed, and genetic tests were applied to the "suspected LS" cases. In the course of this study, we found and reported that isolated loss of PMS2 protein is frequently caused by hyper-methylation of MLH1 promoter. Our derivative task was to capture the clinical features of Lynch-like cases (LL) that show LS-like molecular features but have no pathogenic mutations in germline MMR genes. We reported the distribution, characteristics, and regionality of LS and LL classified by LS identification study in Asian EC cases.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：リンチ症候群 子宮内膜癌 識別戦略 スクリーニング 遺伝性腫瘍 ミスマッチ修復

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

少子高齢化が進む日本において、癌患者は増加し管理は肥大化し、医療費を含めた社会福祉予算は増大の一途を辿っている。癌診療と公的検診は品質と共に効率向上が求められており、環境的・遺伝的素因を踏まえた対象の選別と科学的根拠に基づく予防的医療の展開が急務である。本邦では、子宮体癌の罹患率が上昇を続けており、年間1万人以上が罹患し2000人前後が原病死している。子宮体癌は生活習慣病、先行・続発癌、家族歴を伴う場合が多く、発癌背景には環境因子や遺伝的素因が関与しているものと、予てより推測されてきた。遺伝性腫瘍は特定の遺伝子変異の継承によって発生し、一般に悪性腫瘍全体の5-10%を占めると推定されている。特徴は若年発症、多発腫瘍、家族性発生であり、少なからずの生産年齢患者が社会活動からの離脱を余儀なくされている。リンチ症候群(LS)はDNAミスマッチ修復(MMR)機構の障害により、多種の腫瘍が高頻度に発生する常染色体優性遺伝の症候群であり、既知の遺伝性腫瘍症候群の中で最も癌発生頻度が高い。LSは主に4種のMMR遺伝子(*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*)の生殖細胞変異によって引き起こされる。LS女性は子宮体癌患者全体の5%前後に内在し、大腸癌の生涯発生リスクは43~48%、子宮体癌の生涯発生リスクは40~62%と推定され、その他関連癌(表1上段)の発生頻度も大きく上昇させる。LS女性においては、婦人科癌が前哨癌(センチネル癌)として大腸癌と同等以上の役割を果たし、子宮体癌発症後には他の関連癌発生リスクが大幅に上昇すると報告されている。大腸癌(結腸直腸癌)領域において識別されるLSは、遺伝性非ポリポーシス大腸癌として医学研究が先行し、臨床像が明らかになり、識別法や管理指針が定まりつつある。その費用対効果(臨床的意義)の大きさから、米国消化器学会が全大腸癌患者へのLSスクリーニングとLS患者への積極的な医療管理を推奨し、本邦でも「遺伝性大腸癌診療ガイドライン」が刊行されている。しかしながら、大腸癌と子宮体癌におけるLS患者の臨床分布や特徴には異同があると認識されており、管理指針の策定には子宮体癌における臨床研究が不可欠である。LS関連癌の発生頻度は民族・人種・地域的な背景に応じた差異があり、これを捉えることで適切なLSの識別法と医療管理指針を導き出せる。しかしながら、子宮体癌患者の全体を対象とした調査研究は欧米で散見されるものの、アジアでは皆無である。男女ともに消化器癌の発生率が高い本邦においては、LS患者識別の臨床的意義が特に深いにも関わらず、臨床的分布や特徴さえも未だ不明である。遺伝性疾患に対する診療においては、地域性や人種差を無視した管理指針の設定は科学的に不適切であり、本邦における臨床研究が実行されるべきである。臨床情報に基づ

くLSの識別法としてアムステルダム基準(表1中段)や改訂ベセスダガイドラインが用いられてきた。アムステルダム基準は要件が厳しいため感度が低く、特異度においても評価が分かれる。改訂ベセスダガイドラインは大腸癌患者において臨床的に有用あるが、その汎用性は不明である。婦人科癌におけるトリアージ法として改訂ベセスダガイドラインを踏襲したSGO基準(表1下段)が2007年に公開されたが、期待された高感度は得られていない。問診で収集できる情報には限界があり、精度も問題視されている。これら臨床基準の評価は煩雑でもあり、癌診療現場への定着は見込まれていない。分子学的な解析として、マイクロサテライト不安定性(MSI)検査やMMR

リンチ症候群関連癌: 大腸癌、子宮体癌、胃癌、卵巣癌、膵臓癌、小腸癌
腎盂・尿管癌、胆道癌、脳腫瘍、皮膚腫瘍など

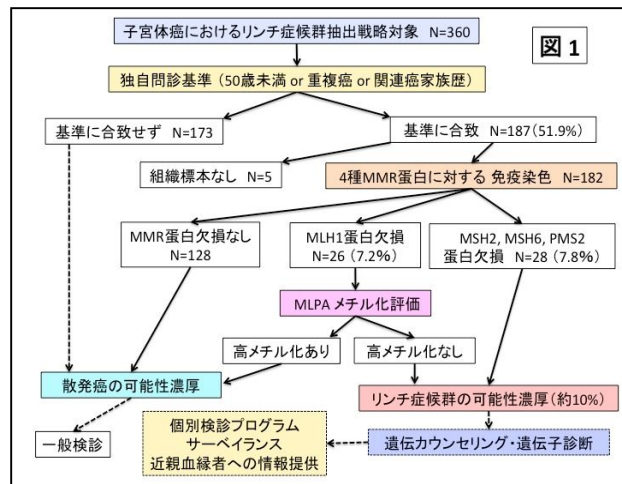
【アムステルダム基準II】Vasen HF, et al. *Gastroenterology* 1999;116(6):1453-6.
血縁者に3名以上のHNPCC (=リンチ症候群) 関連がんに罹患しており、かつ、以下のすべての条件に合致していること。
1) 罹患者の1名は他の2名の第1度近親者であること
2) 少なくとも継続する2世代にわたり罹患者がいること
3) 罹患者の1名は50歳未満で診断されていること
4) 家族性大腸腺腫症が除外されていること
5) がんが、病理検査により確認されていること

表 1

【SGO 5-10% 基準】Lancaster JM, et al. *Gynecol Oncol* 2007;107(2):159-62.
以下の1項目以上を満たす
1) 50歳未満で発症した子宮内膜癌または大腸癌の患者
2) 子宮内膜癌または卵巣癌の患者で、大腸癌あるいはリンチ症候群関連腫瘍の同時性・異時性重複癌がある
3) 子宮内膜癌または大腸癌の患者で、第1度近親者の1人以上が50歳未満でリンチ症候群関連腫瘍と診断されている
4) 大腸癌または子宮内膜癌の患者で、第1~2度近親者の2人以上がリンチ症候群関連腫瘍と診断されている
5) 以上の基準を満たす第1~2度近親者がいる患者

蛋白の発現をみる免疫組織化学 (IHC) が用いられている。全例に分子学的解析を行う戦略 (ユニバーサルスクリーニング) を高感度のスクリーニング法として支持する意見があるが、臨床像が不明確で診断後の管理指針も定まっていない現状では、費用対効果の観点から臨床的有益性を断じることは出来ない。一方で、簡素な臨床情報と分子学的解析を組み合わせたスクリーニング法が模索されており、識別の効率を改善し費用を削減する戦略として期待されている。前述の学術的背景を踏まえ、本学附属病院で診療した子宮体癌女性 360 人を対象に、独自の高感度トリージ・免疫組織染色・付加的メチル化解析、を実施し、遺伝子検査の候補の絞り込みを行った。LS の臨床分布と日本における関連癌発生の傾向を捉え、日本の子宮体癌における効率的な LS のスクリーニング方法を考案して、2015 年に論文発表した。日本の子宮体癌患者に内在する「LS 疑い」の女性の割合は欧米と同等以上で、特徴として既往歴と家族歴に胃癌の頻度が顕著に高いことを報告した。独自のスクリーニング戦略は識別効率を改善し、係る費用の削減を期待できると考察した。研究の全体像と研究結果の一部を図 1 で示す。

子宮体癌患者から LS 女性を識別してゆくことは、子宮体癌治療後における他関連癌の予防と早期発見・治療において意義深く、近親血縁者にも積極的な検診や予防的医療の機会をもたらす術となる。子宮体癌患者における LS 患者の識別法と管理指針は定まっておらず、その多くが見過ごされている。LS 診断後の取扱いが確立していない現状において、高額な私費診療による遺伝性評価は、患者と家族を終わりなき多発癌の不安に陥れかねず、臨床医は積極的な推奨ができない。この現状を打破するためには、LS の効率的な識別法と適切な管理法の提供が必要だが、臨床像も詳らかでなく、スクリーニングの戦術も未だ定まっていない。



LS 診断後の取扱いが確立していない現状において、高額な私費診療による遺伝性評価は、患者と家族を終わりなき多発癌の不安に陥れかねず、臨床医は積極的な推奨ができない。この現状を打破するためには、LS の効率的な識別法と適切な管理法の提供が必要だが、臨床像も詳らかでなく、スクリーニングの戦術も未だ定まっていない。

2. 研究の目的

子宮体癌患者を対象とした全例調査と、遺伝学的診断に至るまでの解析研究を完遂することにより、日本の子宮体癌におけるリンチ症候群の正確な臨床分布と特徴を明らかにする。同時に、無用な手順や費用を排した効率的で実用的な識別戦略と適切な医療管理指針も考案する。本研究の成果は、研究参加した子宮体癌患者とその家族への適切な検診勧奨として還元し、考案した効率的な識別戦略は LS 患者と LS 家系の診断が適正に普及することを導く。「遺伝性子宮体がん診療ガイドライン」構築の根拠として、近未来において日本の医療と社会福祉に貢献する。

3. 研究の方法

本研究の全体像は前項の図 1 で示している。

(1) 遺伝子解析に同意した LS 疑い患者について、フルシーケンス遺伝子解析を行い MMR 遺伝子の生殖細胞系列変異の有無を診断する。これにより独自戦略の特異度を確定すると共に、真の臨床分布と特徴を導き出す。

(2) 独自の問診基準で除外した子宮体癌患者の腫瘍組織に対して IHC とメチル化解析を行い、独自基準による偽陰性がないか検証する。あれば患者同意の下で遺伝子解析を行う。これにより独自戦略の感度が確定する。

- (3) 独自の問診基準によって分子学的解析対象から除外された(偽陰性)LS患者の臨床情報を検討し、積極的な医療管理を適用すべき対象であるか考察する。これにより医療経済的・臨床的妥当性を検証する。
- (4) LS患者の重複癌組織に対してIHCを行い、MMR遺伝子変異との関連性を明らかにする。これにより関連癌発生との因果関係を明らかにする。
- (5) 独自の問診基準を改訂し、識別戦略における費用対効果の改善を図る。
- (6) 上記(1)～(5)によって得られた知見を、日本の子宮体癌例におけるLSと関連癌の臨床分布、後方視的識別戦略の適応と限界として報告する。
- (7) 上記(1)～(6)を基に既報の戦略と比較検討し、日本の実地臨床に最適なLS識別戦略を策定する。
- (8) 研究成果と最新の知見を統合し、子宮体癌におけるLSの管理指針を考案する。

4. 研究成果

倫理委員会承認と患者同意を経て、EC患者360例を対象に後方視的研究を実施した。高感度一次選別として新規の臨床基準(APF基準)を設計し、合致例の腫瘍組織にMMR蛋白に対する免疫染色(IHC)と選択的メチル化解析を行った。以上により「LS疑い」例を選出し、その特徴と独自戦略の効率性を総合誌に報告した。更に、IHCで検出されるPMS2蛋白単独欠損がMLH1プロモーター領域の高メチル化によって引き起こされることを発見し、遺伝子解析の傍証を添えて専門誌に報告した。全例への分子学的評価(U/S)を追跡し、「LS疑い」例に遺伝子解析を加え、U/SによるLS識別も完遂した。その結果から日本のECにおけるLS女性の割合を約4.5%と推定した。「LS様の分子学的特徴を示すがMMR遺伝子に病的変異を認めない例」はLynch-like cases(LL)と称されるが、認知途上で管理指針もない。その臨床像を捉えることを派生課題とし副次解析を行った。USで選出した「LS疑い」42例中25例に遺伝子解析を行いLS群、LL群に分類し、散発癌群と比較した。LS群は「若年発症」「関連癌病歴」「関連癌家族歴」において他群より高頻度、LL群は「関連癌家族歴(特に胃癌)」において散発癌群より有意に高頻度であった。ECにおけるLSとLLをアジア圏で初めて弁別し、その特徴と地域性を捉え、LLにおいては世界初の詳細として専門誌報告した。MLH1遺伝子のメチル化によるMMR機能障害例についても、解析を進め詳細を準備している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

下記論文はすべて査読あり

- 1) 佐藤直樹. 遺伝性・家族性腫瘍としての子宮体癌 ～リンチ症候群を中心に～. 日本産科婦人科学会雑誌. 2018; 70(11): 2235-2238
- 2) 佐藤直樹, 前田大地. Lynch症候群関連内膜癌. 病理と臨床. 2018; 36(8):766-777
- 3) Tanaka H, Shirasawa H, Shimizu D, Sato N, Ooyama N, Takahashi O, Terada Y. Preventive effect of human papillomavirus vaccination on the development of uterine cervical lesions in young Japanese women. *Obstetrics and Gynecology Research*. 2017; 43(10):1597-1601.
DOI:10.1111/jog.13419
- 4) Takahashi K, Sato N, Sugawara T, Kato A, Sato T, Shimizu D, Tamura D, Kito M, Makino K, Shirasawa H, Miura H, Sato W, Kumazawa Y, Sato A, Terada Y. Clinical characteristics of Lynch-like cases collaterally classified by Lynch syndrome identification strategy using universal screening in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*. 2017 ;147(2):388-395

DOI:10.1016/j.ygyno.2017.08.016

- 5) 菅原多恵, 佐藤直樹, 加藤彩, 高橋和江, 清水大, 佐藤敏治, 牧野健一, 木藤正彦, 田村大輔, 寺田幸弘. 子宮体癌におけるリンチ症候群のスクリーニング戦略. 家族性腫瘍. 2016;16(2) 44-49
DOI:https://doi.org/10.18976/jsft.16.2_44
- 6) Kato A, Sato N, Sugawara T, Takahashi K, Kito M, Makino K, Sato T, Shimizu D, Shirasawa H, Miura H, Sato W, Kumazawa Y, Sato A, Kumagai J, Terada Y. Isolated loss of PMS2 immunohistochemical expression is frequently caused by heterogenous MLH1 promoter hypermethylation in Lynch syndrome screening for endometrial cancer patients. The American journal of surgical pathology. 2016;40(6):770-776
DOI:10.1097/PAS.0000000000000606
- 7) Sugawara T, Sato N, Shimizu D, Sato T, Makino K, Kito M, Tamura D, Kato A, Terada Y. Efficient screening strategy for Lynch syndrome in Japanese endometrial cancer. The Tohoku journal of experimental medicine. 2015;235(2):117-25.
DOI:10.1620/tjem.235.117

〔学会発表〕(計 14 件)

- 1) 菅原多恵, 佐藤直樹, 金子恵菜実, 能登彩, 高橋和江, 田村大輔, 三浦康子, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 遺伝性子宮体癌の識別研究で見えた MMR 機能欠損子宮体癌の臨床像. 第 25 回日本家族性腫瘍学会 (2019)
- 2) 菅原多恵, 佐藤直樹, 能登彩, 高橋和江, 金子恵菜実, 吉川諒子, 田村大輔, 三浦康子, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 費用対効果に優れたリンチ症候群関連子宮体癌のスクリーニング戦略. 第 71 回日本産科婦人科学会 (2019)
- 3) 金子恵菜実, 佐藤直樹, 菅原多恵, 加藤彩, 高橋和江, 田村大輔, 三浦康子, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: MLH1 遺伝子プロモーター高メチル化を伴う子宮内膜癌の臨床的特徴. 第 22 回東北家族性腫瘍研究会 (2019)
- 4) 加藤彩, 佐藤直樹, 菅原多恵, 高橋和江, 田村大輔, 三浦康子, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 子宮体癌における改変 2 抗体式免疫組織化学を用いたリンチ症候群スクリーニングの有用性. 第 70 回日本産科婦人科学会 (2018)
- 5) 佐藤直樹, 菅原多恵, 加藤彩, 高橋和江, 寺田幸弘: 遺伝性子宮体癌の識別研究で見えてくる日本の家族性子宮体癌. 第 21 回東北家族性腫瘍研究会 (2018)
- 6) 加藤彩, 佐藤直樹, 高橋和江, 菅原多恵, 寺田幸弘: Modified two-antibody panel IHC (改変 2 抗体式免疫組織化学) を用いたリンチ症候群スクリーニングの有用性. 第 23 回日本家族性腫瘍学会 (2017)
- 7) 高橋和江, 佐藤直樹, 加藤彩, 菅原多恵, 高須賀緑, 田村大輔, 木藤正彦, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 子宮体癌におけるユニバーサルスクリーニングを用いたリンチ症候群識別戦略で副次的に分類される Lynch like 例の臨床的特徴. 第 23 回日本家族性腫瘍学会 (2017)
- 8) 高橋和江, 佐藤直樹, 加藤彩, 菅原多恵, 高須賀緑, 田村大輔, 木藤正彦, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 子宮体癌におけるリンチ症候群識別戦略で副次的に分類される Lynch-like 例の臨床的特徴. 第 69 回日本産科婦人科学会 (2017)
- 9) 高橋和江, 佐藤直樹, 菅原多恵, 加藤彩, 寺田幸弘: 子宮体癌におけるリンチ症候群識別で分類される Lynch like 例の臨床像. 第 20 回東北家族性腫瘍研究会 (2017)
- 10) 佐藤直樹, 菅原多恵, 加藤彩, 高橋和江, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 子宮体癌における効率的なリンチ症候群の識別戦略 (360 例の後方視的検討) 第 58 回 日本婦人科腫瘍学会学術講演会 (2016)
- 11) 加藤彩, 佐藤直樹, 高橋和江, 菅原多恵: リンチ症候群の識別戦略において PMS2 蛋白の単独欠損が意味するもの ~ 散発例の弁別によって無用な遺伝性評価を回避する ~ . 第 22 回日本家族性腫瘍学会 (2016)

- 12) 加藤彩, 佐藤直樹, 菅原多恵, 高橋和江, 木藤正彦, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: リンチ症候群の識別戦略において PMS2 蛋白の単独欠損が意味するもの～散発例の弁別によって無用な遺伝性評価を回避する～. 第 68 回日本産科婦人科学会 (2016)
- 13) 菅原多恵, 佐藤直樹, 加藤彩, 田村大輔, 木藤正彦, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 子宮体癌におけるリンチ症候群のスクリーニング戦略: 360 症例の検討. 第 21 回日本家族性腫瘍学会 (2015)
- 14) 菅原多恵, 佐藤直樹, 田村大輔, 木藤正彦, 牧野健一, 佐藤敏治, 清水大, 寺田幸弘: 子宮体癌におけるリンチ症候群の臨床分布とその識別法: 当科 360 症例の検討. 第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会 (2015)

〔図書〕(計 2 件)

- 1) 佐藤直樹 (2017)
遺伝性の子宮体癌 (EC) の識別戦略とコンサルティング.
日本医事新報, 4868:56-57.
- 2) 佐藤直樹, 清水大 (2017)
第 2 章 小手術の実際とコツ: D 子宮体部 1. 子宮内膜組織診.
産科と婦人科, 84(増刊号):171-176.

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 寺田 幸弘
ローマ字氏名: TERADA, yukihiro
所属研究機関名: 秋田大学
部局名: 医学系研究科
職名: 教授
研究者番号 (8 桁): 10260431

研究分担者氏名: 菅原 多恵
ローマ字氏名: SUGAWARA, tae
所属研究機関名: 秋田大学
部局名: 医学部附属病院
職名: 医員
研究者番号 (8 桁): 40566163

研究分担者氏名: 高橋 和江
ローマ字氏名: TAKAHASHI, kazue
所属研究機関: 秋田大学
部局: 医学部附属病院
職名: 医員
研究者番号 (8 桁): 40764072

研究分担者氏名: 加藤 彩
ローマ字氏名: KATO, aya
所属研究機関: 秋田大学
部局: 医学部附属病院
職名: 医員
研究者番号 (8 桁): 70764059

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。