

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16778

研究課題名（和文）機能性間質に着目した、卵巣癌における腫瘍間質の起源・役割の解明

研究課題名（英文）Molecular association of functioning stroma with carcinoma cells in the ovary

研究代表者

矢野 光剛 (Yano, Mitsutake)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：70817064

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：機能性間質を伴う卵巣癌14例を特定した。7例が類内膜癌で、7例が明細胞癌であった。Laser microdissectionによって癌細胞組織片と機能性間質組織片を単離し、それぞれの遺伝子解析（KRAS, ARID1A, PIK3CA, PTEN, FOXL2）を行った。1例のみに腫瘍全体、癌細胞、機能性間質に同一の遺伝子変異KRAS (E31K)がみられ、両者が共通の細胞起源を有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

これまでに卵巣癌の腫瘍間質、特にホルモン産生能を伴う機能性間質に着目した研究はわずかしかなかった。我々は、機能性間質を伴う卵巣癌を14例同定して、手術前後の血清エストロゲン値やFSH値の変化から、卵巣腫瘍のエストロゲン産生能とフィードバック機構を確認した。また1例のみであったが卵巣癌上皮と機能性間質に同一のKRAS遺伝子変異がみられ、両者が同一の細胞由来である可能性を見出した。従来から使用されている化学療法は癌細胞自体を標的とするものが多いが、本研究が発信した腫瘍間質の遺伝子変異やその由来の仮説は、腫瘍間質や癌微小環境を標的とする治療開発の一助になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We identified 14 cases of ovarian cancer with functioning stroma. Seven cases were endometrioid carcinoma and seven cases were clear cell carcinoma. Carcinoma cells and functioning stromal tissue were isolated by laser microdissection, and genetic analysis (KRAS, ARID1A, PIK3CA, PTEN, FOXL2) was performed. The same gene mutation KRAS (E31K) was found in the whole tumor, carcinoma cells, and functioning stroma in only one case, suggesting that both may have a common cellular origin.

研究分野：卵巣癌

キーワード：腫瘍間質 機能性間質 KRAS

1. 研究開始当初の背景

(1) 癌と腫瘍間質

癌は、癌細胞自体と、それを取り巻く線維芽細胞、血管やリンパ管、炎症細胞によって形成される腫瘍間質からなり、腫瘍間質は癌の浸潤や転移、治療への反応において重要な役割を担っている。従来、腫瘍間質は癌の浸潤に反応して、骨髄由来や組織に既存する線維芽細胞の増生によって形成される、非腫瘍細胞由来と考えられていた。しかし近年、乳癌や大腸癌、膀胱癌において、癌細胞と腫瘍間質で遺伝子的同一性が報告され、腫瘍間質の一部が癌細胞と同一由来であることが示唆された。その機序を、同一細胞から癌細胞や腫瘍間質に分化する癌幹細胞に求める説や、癌細胞が間葉系細胞の性質を獲得する上皮間葉転換に求める説があるが、腫瘍間質の起源や形成の機序は、未だ議論が残る。

(2) 卵巣腫瘍の機能性間質

卵巣腫瘍は、良性、境界悪性、悪性に分類される。卵巣癌はさらに多数の組織型に分けられ、腫瘍発生や遺伝子異常、予後や治療への反応などの臨床態度が異なる。機能性間質は、卵巣癌では類内膜癌や明細胞癌で、境界悪性腫瘍では粘液性腫瘍で頻度が高いとされる。エオジン好性または淡明な間質細胞が密に増生し(図1)、エストロゲン産生に代表される内分泌機能を備えている。性成熟期ではエストロゲンが生理的に分泌されており、臨床的に問題となることは少ないが、閉経後女性では不正性器出血といったエストロゲン過多兆候が顕在化することがある。

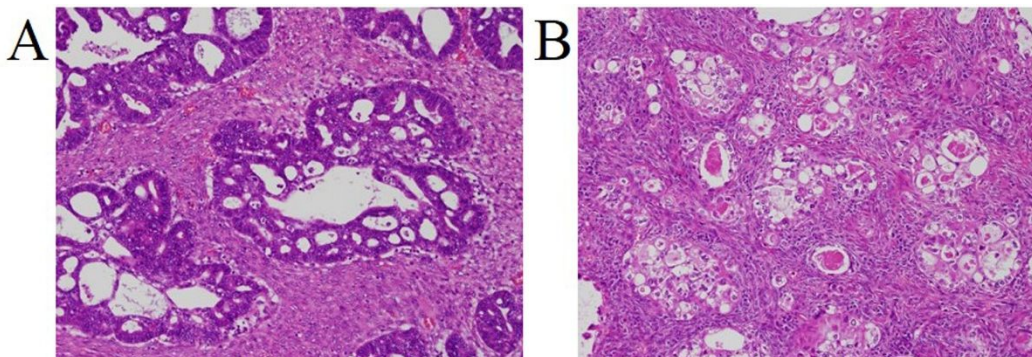


図1. 機能性間質を伴う卵巣癌：癌細胞の周囲には密な機能性間質の増生がみられる。Aは卵巣類内膜癌、Bは卵巣明細胞癌。

卵巣癌はエストロゲン暴露によって発生頻度が上昇するとされるが、エストロゲン産生能を有する機能性間質が卵巣癌の形成や進行に、どのような影響を及ぼしているかは明らかになっていない。また、機能性間質との遺伝子的な差異は明らかになっていない。

(3) 卵巣癌の治療戦略と腫瘍間質

癌化学療法は、癌細胞自体を標的とするものが主流であるが、近年では血管新生や免疫応答など癌を取り巻く微小環境因子を標的とする治療の開発が進んでいる。卵巣癌は、婦人科悪性腫瘍の中で最も死亡者数の多い疾患であり、半数がIII期やIV期で発見されるため、有効な化学療法の探求が不断の課題となっている。標準化学療法のプラチナ製剤とタキサン製剤はいずれも癌細胞を対象としており、腫瘍間質を含めた癌の微小環境を対象とする治療は、血管新生因子を阻害するベバシズマブなど限定的な使用に留まっている。卵巣癌の微小環境、その中心的な存在である腫瘍間質を治療標的とするために、その起源や形成の機序の解明が待たれている。

2. 研究の目的

本研究は、癌の腫瘍間質の起源や役割を解明することで、癌の治療戦略において、癌細胞自体を標的とするだけでなく、腫瘍間質も同時に標的とする治療の可能性を見出すことにある。本研究の独創性は、形態学的や内分泌学的によく分化した腫瘍間質である、卵巣癌の機能性間質を対象とすることにある。卵巣癌の形質発現を根本的に左右する因子とされる組織型、すなわち『形態学的な差異』を、癌細胞のみならず間質においても着目する、形態を基本とした腫瘍特性の探究をテーマとしている。

3. 研究の方法

(1) 実験1：機能性間質を伴う卵巣癌の特定と臨床病理学的特徴の調査

形態学的および内分泌学的に機能性間質を伴う卵巣癌を特定し、臨床病理学的所見との相関を解析する。機能性間質は組織形態、血清エストロゲン値(ng/mL)、血清FSH値(mIU/mL)、子宮内膜の所見、子宮頸部上皮の成熟によって判断する。

(2) 実験 2：癌細胞と機能性間質の遺伝子解析

Laser microdissection を行い、卵巢癌の機能性間質と癌細胞を分離し、遺伝子解析 (KRAS, ARID1A, PIK3CA, PTEN, FOXL2) を行う。実験 1 で特定された症例のパラフィン検体を 10 μm に薄切し、トルイジンブルー染色を行う。Laser microdissection によって、癌細胞と機能性間質を分離し、PCR にて増幅後にサンガー法にて direct sequencing を行う。

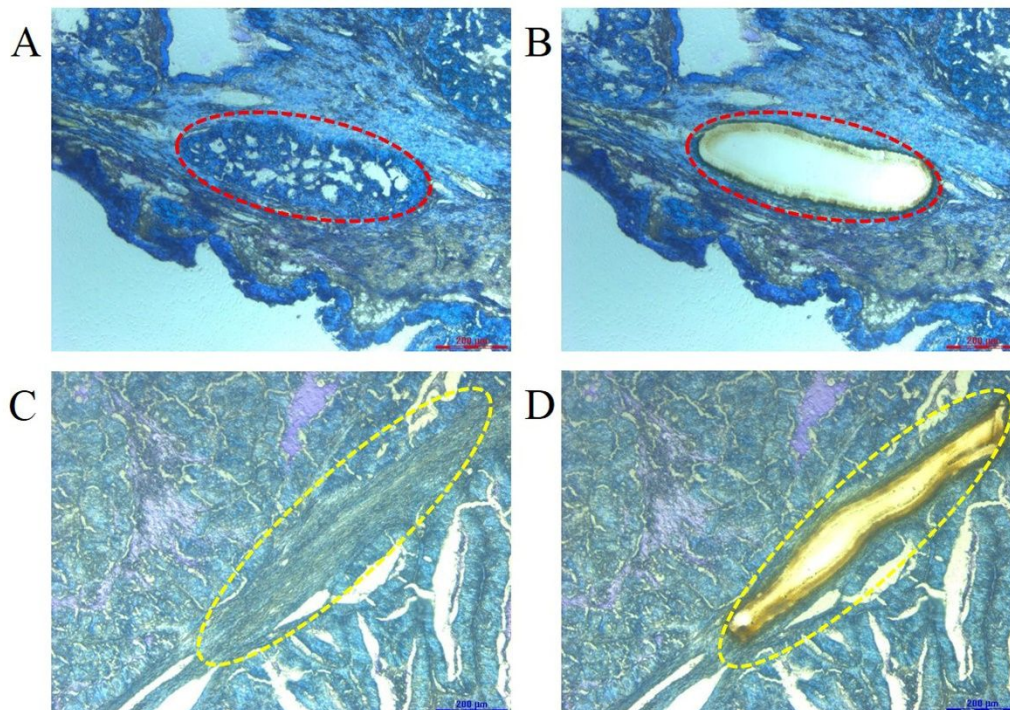


図 2. トルイジンブルー染色下に laser microdissection によって癌細胞(A B)と、機能性間質(C D)を分離した。

4. 研究成果

機能性間質を伴う卵巢癌 14 例を特定した。臨床病理学的特徴を表 1 に示す。患者年齢は 52-80 歳で、閉経期女性が 13 例で周閉経期女性が 1 例であった。組織学的には類内膜癌が 7 例で、明細胞癌が 7 例であった。術前の血清エストロゲン値は、測定可能であった 13 例中で 12 例に上昇がみられた。術前の血清エストロゲン値が高値であった 5 例について、卵巢腫瘍摘出術後のエストロゲン値を測定し、全例で 10 ng/mL 未満まで低下していた。卵巢腫瘍からのエストロゲン産生であったと考えられた。また術前の血清エストロゲン値が高値であった 9 例の全例で術前の血清 FSH 値の低下がみられ、内 6 例では卵巢腫瘍切除後には FSH が閉経期水準まで上昇した。機能性間質を伴う卵巢癌によるエストロゲン産生と FSH のフィードバック機構を確認した。

表 1. 機能性間質を伴う卵巢癌の臨床病理学的所見

症例	年齢	組織型	病期	手術 完遂度	再発	死亡	エストロゲン		FSH	
							術前	術後	術前	術後
1	79	類内膜癌	1C	Opt	なし	なし	50	<10	23	62
2	80	類内膜癌	2B	Opt	なし	なし	50	<10	28	84
3	63	類内膜癌	1C	Opt	なし	なし	103	<10	16	85
4	74	類内膜癌	4A	Sub	なし	なし	36	NA	35	NA
5	70	類内膜癌	1C	Opt	なし	なし	36	<10	39	89
6	65	類内膜癌	1A	Opt	なし	なし	48	NA	NA	NA
7	85	類内膜癌	1C	Opt	なし	なし	129	NA	NA	NA
8	68	明細胞癌	1A	Opt	なし	なし	31	NA	29	96
9	64	明細胞癌	2A	Opt	あり	あり	29	NA	NA	NA
10	62	明細胞癌	1C	Opt	あり	なし	88	<10	6	76
11	63	明細胞癌	1C	Opt	あり	あり	21	NA	55	NA
12	62	明細胞癌	1A	Opt	なし	なし	10	NA	79	NA
13	52	明細胞癌	1C	Opt	なし	なし	NA	NA	NA	NA

Opt, Optimal surgery (手術残存腫瘍が1cm以下); Sub, Suboptimal surgery (手術残存腫瘍は1cmを越える); NA, not available.

次に、14例の腫瘍全体で遺伝子解析を行い、5例でKRASやPIK3CA, ARID1Aの変異がみられた。この5例に対して laser microdissection によって単離した癌細胞組織片と機能性間質組織片の遺伝子解析を行った(表2)。腫瘍全体, 癌細胞, 機能性間質に同一の遺伝子変異 KRAS (E31K) がみられ, 正常子宮(control)では認めなかった(図3)。

表2. 卵巣癌における癌上皮細胞と機能性間質の遺伝子解析

症例	組織型	全体	上皮	間質
1	類内膜癌	KRAS (Q12V)	KRAS (Q12V)	Wild
3	類内膜癌	PIK3CA (G1049S) KRAS (E31K, Q61L)	PIK3CA (G1049S) KRAS (E31K, Q61L)	Wild Wild
4	類内膜癌	PIK3CA (H1047R) KRAS (E31K)	PIK3CA (H1047R) KRAS (E31K)	Wild KRAS (E31K)
9	明細胞癌	PIK3CA (H1047R) PTEN (C105fs*8)	PIK3CA (H1047R) PTEN (C105fs*8)	Wild Wild
11	明細胞癌	ARID1A (L2155L)	ARID1A (L2155L)	Wild

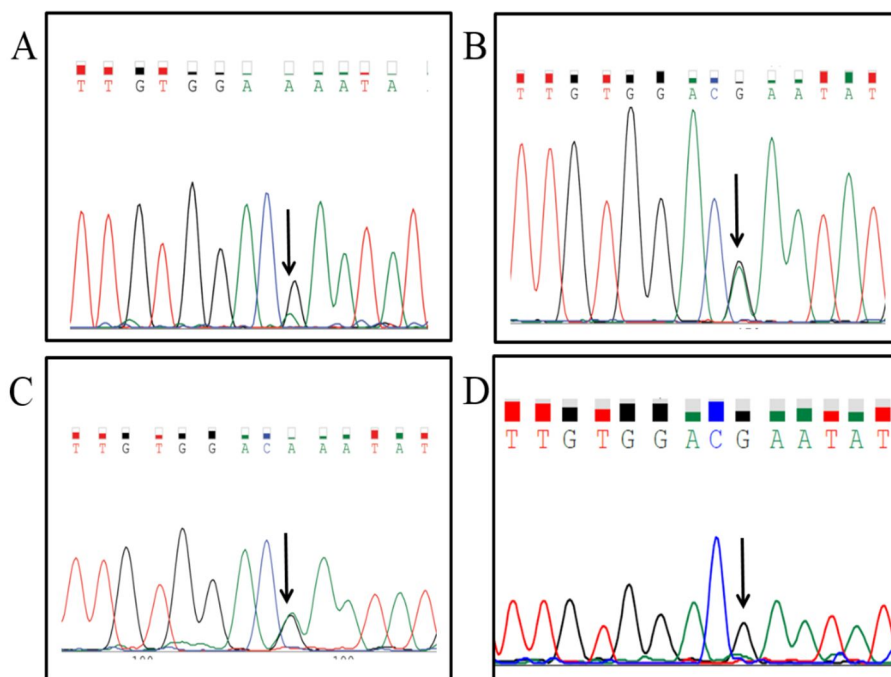


図3. Laser microdissection 後の遺伝子解析。腫瘍全体(A), 癌細胞(B), 機能性間質(C)に同一の遺伝子変異 KRAS (E31K) がみられ, 正常子宮(D, control)では認めなかった。

結論として、機能性間質を伴う卵巣癌 14 例を同定し、類内膜癌と明細胞癌がそれぞれ 7 例ずつであった。Laser microdissection によって単離した癌細胞組織片と機能性間質組織片をそれぞれ遺伝子解析し、1 例のみに癌細胞と機能性間質に同一の遺伝子変異 KRAS (E31K) を同定した。これらの結果を英語原著論文 (Narikiyo M, et al. Oncol Lett. 2019;17:3562-3568) として報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Matsumoto Harunobu, Nasu Kaei, Shikama Ayumi, Shiozaki Takaya, Futagami Masayuki, Kai Kentaro, Mori Taisuke, Yano Mitsutake, Yamada Takashi, Teramoto Norihiro	4. 巻 54
2. 論文標題 Pathological processes and pretreatment cytologic diagnosis of neuroendocrine carcinoma of the endometrium: addendum report of the Kansai Clinical Oncology Group/Intergroup study in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 237 ~ 244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00288-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Heong Valerie, Tan Tuan Z, Miwa Maiko, Ye Jieru, Lim Diana, Herrington C Simon, Iida Yasushi, Yano Mitsutake, Yasuda Masanori, Ngoi Natalie YL, Wong SB Justin, Okamoto Aikou, Gourley Charlie, Hasegawa Kosei, Tan David SP, Huang Ruby YJ	4. 巻 255
2. 論文標題 A multi ethnic analysis of immune related gene expression signatures in patients with ovarian clear cell carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 285 ~ 295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nasu Kaei, Aoyagi Yoko, Zhu Ruofei, Okamoto Mamiko, Yano Mitsutake, Kai Kentaro, Kawano Yasushi	4. 巻 55
2. 論文標題 Role of repressed microRNAs in endometriosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00303-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 YANO MITSUTAKE, MIYAZAWA MARIKO, OGANE NAOKI, OGASAWARA AIKO, HASEGAWA KOSEI, NARAHARA HISASHI, YASUDA MASANORI	4. 巻 41
2. 論文標題 Up-regulation of HDAC6 Results in Poor Prognosis and Chemoresistance in Patients With Advanced Ovarian High-grade Serous Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1647 ~ 1654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.14927	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 MIYAZAWA MARIKO、YASUDA MASANORI、MIYAZAWA MASAKI、OGANE NAOKI、KATOH TOMOMI、YANO MITSUTAKE、HIRASAWA TAKESHI、MIKAMI MIKIO、ISHIMOTO HITOSHI	4. 巻 40
2. 論文標題 Hypoxia-inducible Factor-1 Suppression in Ovarian Clear-cell Carcinoma Cells by Silibinin Administration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6791 ~ 6798
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.14702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 YANO MITSUTAKE、ASO SAKI、SATO MIHO、AOYAGI YOKO、MATSUMOTO HARUNOBU、NASU KAEI	4. 巻 40
2. 論文標題 Pembrolizumab and Radiotherapy for Platinum-refractory Recurrent Uterine Carcinosarcoma With an Abscopal Effect: A Case Report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4131 ~ 4135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.14412	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Miho, Yano Mitsutake, Sato Shimpei, Aoyagi Yoko, Aso Saki, Matsumoto Harunobu, Yamamoto Ichiro, Nasu Kaei	4. 巻 99
2. 論文標題 Uterine tumor resembling ovarian sex-cord tumor (UTROSCT) with sarcomatous features without recurrence after extended radical surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e19166 ~ e19166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000019166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Narikiyo Mika, Yano Mitsutake, Kamada Kouichi, Katoh Tomomi, Ito Kozue, Shuto Masayo, Kayano Hidekazu, Yasuda Masanori	4. 巻 17(3)
2. 論文標題 Molecular association of functioning stroma with carcinoma cells in the ovary: A preliminary study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 3562-3568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2019.9992	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 Yano Mitsutake, Shintani Daisuke, Katoh Tomomi, Hamada Mei, Ito Kozue, Kozawa Eito, Hasegawa Kosei, Yasuda Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Coexistence of endometrial mesonephric-like adenocarcinoma and endometrioid carcinoma suggests a Mullerian duct lineage: a case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-019-0830-4	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 Ito Kozue, Yano Mitsutake, Ogasawara Aiko, Miwa Maiko, Kozawa Eito, Yasuda Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 A unique uterine cervical "teratocarcinosarcoma": a case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-019-0890-5	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 Yano Mitsutake, Katoh Tomomi, Hamaguchi Tetsuya, Kozawa Eito, Hamada Mei, Nagata Koji, Yasuda Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Tumor-to-tumor metastasis from appendiceal adenocarcinoma to an ovarian mature teratoma, mimicking malignant transformation of a teratoma: a case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-019-0865-6	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 Yano Mitsutake, Katoh Tomomi, Nakajima Yoshie, Iwanaga Shiro, Kin Rei, Kozawa Eito, Yasuda Masanori	4. 巻 15
2. 論文標題 Uterine intravenous leiomyomatosis with an isolated large metastasis to the right atrium: a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-019-0913-2	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 Sato Miho, Yano Mitsutake, Sato Shimpei, Aoyagi Yoko, Aso Saki, Matsumoto Harunobu, Yamamoto Ichiro, Nasu Kaei	4. 巻 99
2. 論文標題 Uterine tumor resembling ovarian sex-cord tumor (UTROSCT) with sarcomatous features without recurrence after extended radical surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e19166 ~ e19166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000019166	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 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 矢野光剛
2. 発表標題 再発腔悪性黒色腫に対するニボルマブ+イピリムマブ併用療法の使用経験
3. 学会等名 第36回日本生殖免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野光剛
2. 発表標題 Histone Deacetylase 6を基軸とした卵巣明細胞癌の治療標的の同定および治療薬の開発
3. 学会等名 第63回日本婦人科腫瘍学会学術講演会(高得点演題)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野光剛
2. 発表標題 卵巣成熟奇形腫に悪性リンパ腫が併存した一例
3. 学会等名 第53回日本婦人科病理学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野光剛
2. 発表標題 Aggressive angioomyxomaに対して腫瘍切除後にアロマトーゼ阻害剤を使用した1例
3. 学会等名 第53回日本臨床分子形態学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野光剛
2. 発表標題 扁平上皮病変を考える - どこからLSILとして拾うか・どこからHSIL とするべきか -
3. 学会等名 第59回日本臨床細胞学会秋期大会シンポジウム1 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢野光剛
2. 発表標題 子宮体部Mesonephric-like Adenocarcinomaの同定と他組織型との臨床病理学的特徴の比較
3. 学会等名 第52回日本臨床分子形態学会総会シンポジウム2 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mitsutake Yano, Masanori Yasuda, Maiko Miwa, Aiko Ogasawara, Hisashi Narahara
2. 発表標題 A unique uterine cervical cancer: Carcinosarcoma with teratomatous features
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 矢野光剛, 奈須家栄	4. 発行年 2021年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 産婦人科の実際 2021年11月臨時増刊号【図解 分子メカニズムから理解する婦人科がんの薬物療法】臓器横断的な考え方を要する婦人科悪性腫瘍 悪性黒色腫	

〔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
---------	---------