

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18652

研究課題名（和文）子宮頸癌における新規放射線感受性バイオマーカーSIM2Lの臨床的意義の検討

研究課題名（英文）Evaluating the clinical utility of SIM2L as a predictive radiosensitivity biomarker for uterine cervical cancer

研究代表者

中村 加奈子（Nakamura, Kanako）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：40627155

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：局所進行子宮頸癌において同時化学放射線治療は重要な治療戦略の一つである。しかしながら1年以内に約1割の患者が再発しており、同時化学放射線治療の感受性マーカーとして転写因子SIM2Lが活用できるか評価を行った。48症例の同時化学放射線治療開始前の生検検体を使用し免疫組織化学によるSIM2発現の評価をH-scoreを用いて行った。その結果、SIM2の発現がLowである症例は27例、Highである症例は21例であり、SIM2発現の高い群の方が低い群と比較して予後不良であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌の治療はテーラーメイドの時代へ突入し、治療の個別化を行ない個々の患者に有効な治療を提供することを目指し、基礎分野も臨床分野も研究が加速している。子宮頸癌患者は近年増加傾向であり、同時化学放射線治療に対する治療抵抗群の存在は看過できない問題であった。今回の研究で同時化学放射線治療を受けた患者におけるSIM2の発現が予後と関連する傾向が示唆されたことで、多くの同時化学放射線治療を計画されている子宮頸癌患者の中の治療抵抗群の予測が立ち、不要な合併症や有害事象を回避し他の選択肢を提供できる可能性が広がった。

研究成果の概要（英文）：Concurrent chemoradiotherapy (CCRT) is one of the important treatment strategies for locally advanced cervical cancer. However, about 10% of patients have relapsed within one year. We assessed the transcriptional factor SIM2L is used as a susceptibility marker for CCRT. SIM2 expression of biopsy samples of 48 cases before CCRT was assessed by immunohistochemistry using H-scores. Low SIM2 expression levels were observed in 27 and high SIM2 expression levels were observed in 21 cases. Overall survival was shorter in the group with high SIM2 expression than in the group with low SIM2 expression.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮頸癌 扁平上皮癌 同時化学放射線治療 転写因子 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮頸癌は近年、罹患率・死亡率ともに若年層で増加傾向にある。早期に発見されれば手術療法で切除可能だが、局所進行子宮頸癌になると同時化学放射線療法(CCRT)や放射線単独療法による治療が中心となり、全世界的に重要視されている治療戦略である。しかしながら CCRT 後 5 年以内に約 3 割が再発し、わずか 1 年で再発する症例も約 1 割を占める。副作用や合併症のリスクを負って治療したにも関わらず治療に抵抗性を示す患者が一定の割合で存在し、そういった治療抵抗群の患者を判別するためのバイオマーカー、つまり放射線感受性を規定する確立されたバイオマーカーが存在しないことが問題である。我々は転写因子 single minded homolog2 long (SIM2L)に着目し、子宮頸部扁平上皮癌患者において SIM2L の低発現は有意に予後が不良であること、子宮頸部扁平上皮癌細胞株を用いた *in vitro/in vivo* の実験において SIM2L のノックダウンは HIF1A や VEGFA などの転写を促進し腫瘍増殖の促進・血管新生の促進・放射線感受性の低下に寄与することを証明した(Nakamura K, et al., Sci Rep., 2017)。申請者はこの基礎研究の裏付けをもとに、臨床応用を想定した研究として子宮頸癌患者の臨床検体を用いた研究を行い、子宮頸癌における新規バイオマーカーの臨床応用を目標として研究を進めてきた。

2. 研究の目的

進行子宮頸癌患者の放射線治療抵抗群を治療開始前に抽出し、治療抵抗群に個別の治療を提供するためのバイオマーカーを確立するため、子宮頸癌患者の臨床検体を用いて SIM2L の発現と臨床的特徴・臨床病期 分類・予後等を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

2012 年から 2018 年までの期間に組織診により子宮頸癌と診断された症例のうち、組織型が扁平上皮癌で同時化学放射線療法を受けた症例で研究に同意した 48 症例を研究対象とした。48 例の臨床病理学的特徴の評価を行い、同時化学放射線療法開始前の生検検体に対し抗 SIM2 抗体(#ab254635, Abcam, Cambridge, UK)を用いて免疫染色化学による評価を行った。SIM2 には SIM2 long と SIM2 short の 2 つのスプライシングバリエーションが存在するため、本抗体で予後の評価として妥当な結果が得られなかった場合には SIM2L のみを認識する抗体を新規に作成し免疫染色を試みることにした。また、SIM2 により発現調節を受けると想定される HIF1A(#ab51608, Abcam, Cambridge, UK)や血管マーカーである CD31(#ab28364, Abcam, Cambridge, UK)についても SIM2 との関連性の検討を行った。SIM2 は細胞核内に存在し、腫瘍細胞の染色強度(0:陰性, 1:弱陽性, 2:中等度陽性, 3:強陽性)に陽性細胞の分布割合(0-100%)を掛け合わせ合算した H-score を用いて判定し、0-200 未満を Low, 200 以上 300 以下を High としそれぞれ 3 群へ分類し予後との関連性を評価した。

4. 研究成果

子宮頸癌患者で組織診で扁平上皮癌と診断され同時化学放射線療法を受けた 48 例のうち、治療終了後に再発した症例は 14 例で、2 例は治療終了時点で腫瘍が残存していた。この 16 例のうち、10 例が死亡し、3 例が担癌生存、3 例が化学療法などで無病生存であった。本邦では早期子宮頸癌は手術療法による治療が多いことが影響し、48 例の臨床進行期は 1 期が 8 例、2 期が 20 例、3 期が 17 例、4 期が 3 例であった。SIM2L, SIM2s のいずれも認識する抗 SIM2 抗体(#ab254635, Abcam)を用いた免疫組織化学染色の結果、SIM2 の発現が Low である症例は 27 例、High である症例は 21 例であった。代表的な免疫組織化学染色の結果を Figure 1 に示す。SIM2 は正常子宮頸部傍基底細胞・基底細胞で陽性となることが知られているが、それと比較し明らかに腫瘍組織全体が強陽性を示す症例から、ほぼ染色されない症例まで発現強度と染色面積は様々であった。

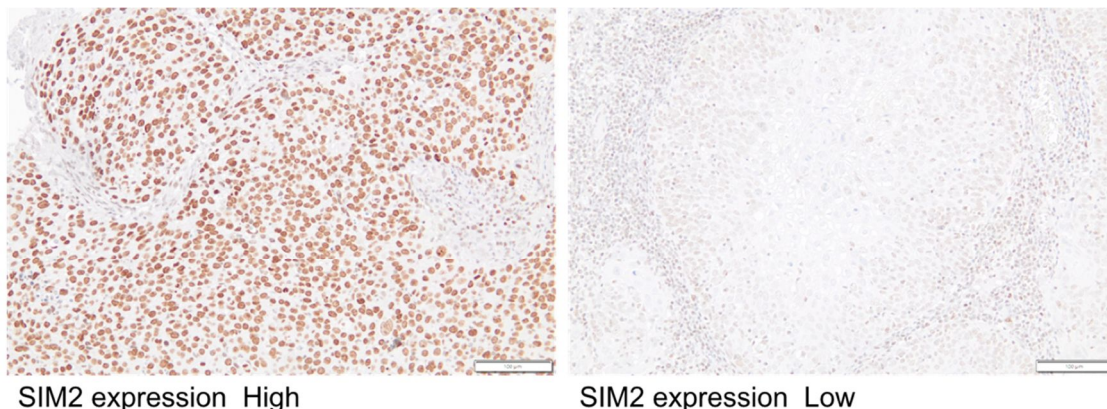


Figure 1. Examples of SIM2 immunohistochemical expression in cervical squamous cell carcinoma patients.

Table 1 は臨床病理学的特徴と SIM2 発現を示したものである。発症年齢、臨床進行期、リンパ節転移の有無などと SIM2 の発現には明らかな関連は認められなかった。一方で、統計学的に有意差は認められなかったが、SIM2 の発現が高い群は低い群と比較し予後が不良である傾向を認めた (Figure 2)。SIM2 には long と short のバリエーションが存在することから、SIM2L のみを認識する抗体を新規に作製し発現の評価を行うことを試みたが、正しく核内が染色されず正確な評価を行うことが困難と判断した。

Variables	Number of cases	SIM2 expression levels		P value*
		Low (n=27)	High (n=21)	
Age (years)		55.7±14.3	52.8±15.7	
Clinical stage				
I	8	6	2	0.084
II	20	12	8	
III	17	6	11	
IV	3	3	0	
Lymph node metastasis				
Negative	24	13	11	0.771
Positive	24	14	10	
Disease free interval				
< 1 year	12	4	8	0.064
≥ 1 year	36	23	13	

*P values was calculated using the chi-squared test to assess the associations between SIM2 levels and clinicopathological factors.

Table 1. Relationship between SIM2 expression and clinicopathological features in cervical squamous cell carcinoma patients who received CCRT.

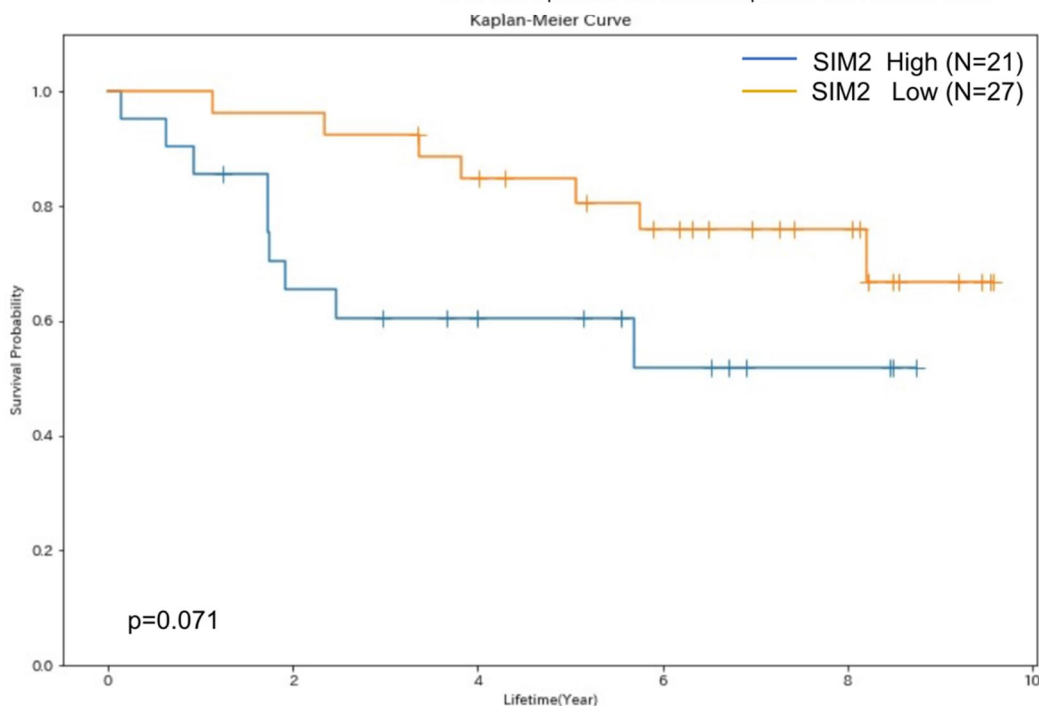


Figure 2. Overall survival of cervical squamous cell carcinoma patients classified by SIM2 expression. Each dot represents censored patients. P-value was calculated by log-rank analysis.

今回の研究で、当初想定していた結果に反して、「SIM2 の高発現は予後不良である」という仮説が成り立った。事前の基礎実験の結果と臨床検体を用いた結果が相反するものとなった理由の一つとして、SIM2 のバリエーションの存在が考えられた。当初着目していた SIM2 long と癌に関する報告はほとんどなく、申請者の研究以外では食道癌において SIM2 long の高発現は予後良好との報告があるのみである¹。一方で SIM2 short と癌との関連については複数の報告がある。SIM2 short のノックダウンは大腸癌においてアポトーシスを誘導するという報告や、SIM2 のノックダウンはグリオーマにおいて mesenchymal-epithelial transition を介して腫瘍の浸潤を抑制するという報告がある^{2,3}。SIM2 long と SIM2 short を共に認識する抗体により今回の結果が得られたことで、子宮頸部扁平上皮癌では SIM2 short が強く関与しており予後に起因すると考えられた。今後さらに症例数の蓄積を行い、定量的な評価方法などを検討していく。

<引用文献>

1. Tamaoki M. *et al.* Multiple roles of single-minded 2 in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical implications. *Cancer Sci* 109, 1121-1134.
2. Aleman, M. J. *et al.* Inhibition of Single Minded 2 gene expression mediates tumor-selective apoptosis and differentiation in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 12765-12770.
3. Su, Y. *et al.* Targeting SIM2-s decreases glioma cell invasion through mesenchymal-epithelial transition. *J Cell Biochem* 115, 1900-1907.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Komatsu Masayuki, Nakamura Kanako, Takeda Takashi, Chiwaki Fumiko, Banno Kouji, Aoki Daisuke, Takeshita Fumitaka, Sasaki Hiroki	4. 巻 41
2. 論文標題 Aurora kinase blockade drives de novo addiction of cervical squamous cell carcinoma to druggable EGFR signalling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 2326 ~ 2339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-022-02256-3	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 Kobayashi Yusuke, Banno Kouji, Kunitomi Haruko, Takahashi Takayuki, Takeda Takashi, Nakamura Kanako, Tsuji Kosuke, Tominaga Eiichiro, Aoki Daisuke	4. 巻 45
2. 論文標題 Warburg effect in Gynecologic cancers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 542 ~ 548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.13867	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 Kobayashi Yusuke, Banno Kouji, Kunitomi Haruko, Nagai Shimpei, Takahashi Takayuki, Anko Mayuka, Iijima Moito, Takeda Takashi, Matoba Yusuke, Nakamura Kanako, Tsuji Kosuke, Tominaga Eiichiro, Aoki Daisuke	4. 巻 28
2. 論文標題 Is antidiabetic statin use for cancer prevention a promising drug repositioning approach?	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Cancer Prevention	6. 最初と最後の頁 562 ~ 567
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/CEJ.0000000000000497	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 Takeda Takashi, Komatsu Masayuki, Chiwaki Fumiko, Komatsuzaki Rie, Nakamura Kanako, Tsuji Kosuke, Kobayashi Yusuke, Tominaga Eiichiro, Ono Masaya, Banno Kouji, Aoki Daisuke, Sasaki Hiroki	4. 巻 10
2. 論文標題 Upregulation of IGF2R evades lysosomal dysfunction-induced apoptosis of cervical cancer cells via transport of cathepsins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 876-876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-019-2117-9	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

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Nakamura K, Komatsu M, Takeda T, Chiwaki F, Tsuji K, Kobayashi Y, Tominaga E, Banno K, Sasaki H, Aoki D
2. 発表標題 Blockade of Aurora Kinase A/B Enhances Sensitivity to an EGFR Inhibitor via Addiction to the EGFR Pathway in Cervical Squamous Cell Carcinoma
3. 学会等名 Royal College of Obstetricians & Gynaecologists (RCOG) World Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iijima M, Okonogi N, Banno K, Tsuji K, Kobayashi Y, Tominaga E, Hasegawa S, Aoki D
2. 発表標題 Postirradiation PD-L1 expression and low tumor-infiltrating CD8+ cytotoxic lymphocytes are predictors of an improved prognosis after carbon ion radiotherapy for uterine cervical adenocarcinoma
3. 学会等名 Royal College of Obstetricians & Gynaecologists (RCOG) World Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeda T, Komatsu M, Banno K, Tsuji K, Kobayashi Y, Tominaga E, Sasaki H, Tanaka M, Aoki D
2. 発表標題 Insulin like growth factor 2 receptor act as a prognostic biomarker and behaves as an oncogene escaping from lysosomal dysfunction-induced apoptosis in cervical cancer
3. 学会等名 Royal College of Obstetricians & Gynaecologists (RCOG) World Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹田 貴, 中村加奈子, 小松将之, 千脇史子, 辻 浩介, 小林佑介, 富永英一郎, 阪埜浩司, 佐々木博己, 青木大輔
2. 発表標題 子宮頸がんに対する治療戦略構築のための新規予後相関バイオマーカーの探索
3. 学会等名 第7回婦人科がんバイオマーカー研究会 学術集会
4. 発表年 2019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
---------	---------