

令和 6 年 6 月 1 4 日現在

機関番号：3 2 6 5 1

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：2 0 K 1 8 2 0 3

研究課題名（和文）卵巣成人型顆粒膜細胞腫の発生と治療に関する新規因子の探索

研究課題名（英文）Investigation of the novel factors for the tumorigenesis and the treatment of adult type granulosa cell tumor of the ovary.

研究代表者

柳田 聡（YANAGIDA, Satoshi）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：6 0 3 0 7 4 7 8

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：成人発型顆粒膜細胞腫（aGCT）患者64人のうち、46人はaGCT特異的FOXL2変異を有し、残りの18人はFOXL2 wtであった。病理学的に非aGCTと診断された3人を除く61人の患者のうち、10人は予後との相関が報告されているTERTプロモーター変異を有していた。61例中6例に計8回の再発が認められ（PFS中央値149ヵ月）、初発例と再発例で変異の状態に変化はなかった。FOXL2遺伝子変異は予後を悪化させる傾向が認められたが、TERプロモーター変異と予後との相関は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

aGCTは希少癌であり、再発までの期間が長い事を特徴とする。また、初発のみならず再発においても手術以外の有効な治療法がなく、新規の治療法の確立が望まれる。しかし、希少癌は症例の蓄積が困難であり臨床試験を行う事も困難であるため、限られた知見の中で腫瘍の性質を明らかにする事が重要である。このような状況において、aGCT特異的なFOXL2変異やTER promoterの変異が予後に相関するという報告は、機能解析や新規バイオマーカー同定の足がかりとなるものであり、本研究においてこれを日本人コホートで検証する事は日本におけるaGCT研究を進める上で重要である。

研究成果の概要（英文）：Of 64 patients with primary adult-onset granulosa cell tumor (aGCT), 46 had aGCT-specific FOXL2 mutations, and the remaining 18 had FOXL2 wt. Of the 61 patients, excluding the 3 pathologically diagnosed non-aGCT patients, 10 had TERT promoter mutations that have been reported to correlate with prognosis. 6 of the 61 patients had a total of 8 relapses (median PFS 149 months), with no change in mutation status between initial and relapsed cases. There was a trend toward worse prognosis with FOXL2 mutation, but no correlation between TER promoter mutation and prognosis.

研究分野：婦人科悪性腫瘍

キーワード：卵巣成人型顆粒膜細胞腫 バイオマーカー FOXL2

1. 研究開始当初の背景

卵巣成人型顆粒膜細胞腫(adult type granulosa cell tumor of the ovary (以下aGCT))は卵巣悪性腫瘍の5%を占める希少癌である。臨床的には約90%がⅠ期で診断されるが、初回手術後5年以上経過してからの晩期 再発を特徴とし、再発後の予後は不良である。進行例や再発例に対しての化学療法は奏功せず、手術以外の有効な治療法はないため、新規治療法の確立が求められている。しかしaGCTのような希少癌は臨床試験を行う事が困難であり、旧来の不十分なエビデンスや他の卵巣悪性腫瘍に対する治療法に頼らざるを得ない状況である。このような疾患に対し、新技術を用いた基礎的な解析を基に新規治療を開発し、予後の改善を図る事は必須である。

近年、aGCTの90%以上にFOXL2遺伝子の変異(FOXL2 C402G 変異)が同定され、ドライバ変異として注目されている。また、TERT promoter 変異(TERT promoter C228T 変異)が再発率の上昇に関与する事も報告されている。しかし、FOXL2 変異、TERT promoter 変異のいずれについても、機能解析は進んでいない。また、日本人コホートにおける検証も行われていない。

2. 研究の目的

本研究においては、aGCTの発生と治療の新規バイオマーカーの同定を目的とし、日本人コホートにおけるFOXL2とTERT promoter 変異の発生頻度と予後の相関について、既報との比較により検証する。

3. 研究の方法

慈恵医大産婦人科および関連施設において1990年から2019年の間に採取された64例のaGCTのFFPE検体より抽出したDNAを使用し、FOXL2とTERT promoterの変異の有無を同定した。DNAの抽出はQiagen AllPrep DNA/RNA FFPE Kitを用い、変異の有無はallelic discrimination assayにて行う。FOXL2変異の無い症例は病理医によるreviewを行い、他の腫瘍と思われる検体は除く。こうして病理学/遺伝学的に診断された真のaGCTを対象とし、日本人における変異の発現率と予後に対する影響を検証する。予後の検証は、Kaplan-Meier法にて行う。

4. 研究成果

(1)原発aGCT検体におけるFOXL2変異、TERT promoter 変異の頻度

原発性aGCT患者64例のうち、allelic discrimination assayにより、46例(44 heterozygous and 2 homozygous/hemizygous 変異)でFOXL2 C402G 変異が認められ、残りの18例はFOXL2 wtであった(図1、図2-1)。18例のFOXL2 wt症例を病理学的検討した結果、非aGCT症例を3例認めた(Sertoli-Leydig細胞腫瘍2例、性索間質腫瘍1例)。

FOXL2 C402G 変異を有する検体(molecularly diagnosed aGCT (M-aGCTs); n=46)と、FOXL2 wtで典型的な形態を有する検体(pathologically confirmed aGCT (P-aGCTs); n=15)をmolecularly/pathologically confirmed aGCTと定義した(MP-aGCT; n=61)。M-aGCTとP-aGCTの間には、2名の病理医による検討の結果、形態学的な差は認められなかった。

これらの61例のMP-aGCTのうち、10例はheterozygous TERT C228T promoter 変異を有し(M-aGCT9/46例、P-aGCT1/15例、p=0.24)、51例はwt TERT promoter を有していた(図2-2)。homozygous/hemizygous FOXL2 変異変異を有する2症例は、いずれもTERT promoter 変異を有していた。

(2)原発性腫瘍と再発腫瘍におけるFOXL2およびTERT promoter 変異の比較

aGCTは原発性手術後の再発が遅いため、進行による変化を同定するために、同一患者の原発性および再発検体におけるFOXL2およびTERT promoter 変異状態を比較した(図3)。

6人の患者に合計8回の再発を認めた。最初の再発のPFS中央値は149ヵ月であった。

(表1)。そのうち4人はheterozygous FOXL2 C402G 変異と wt TERT promoter を有し、6人で再発を認めた。1人の患者はheterozygous FOXL2 C402G 変異と TERT promoter C228T 変異を有し、1回の再発を認めた。1人の再発患者は FOXL2 が wt で TERT promoter が wt であった。同一患者の原発巣と再発巣では、FOXL2 と TERT promoter の変異状態に変化は認められなかった。

(3)MP-aGCT における臨床病理学的パラメータと FOXL2 および TERT promoter の変異との相関

MP-aGCT における FOXL2 および TERT promoter 変異の影響を調べるため、臨床病理学的パラメータとこれらの変異状態との相関を解析した(表1)。FOXL2 変異はいかなる臨床病理学的パラメータとも関連していなかったが、TERT promoter 変異の存在は、診断時の年齢、腫瘍の大きさ、手術の種類(妊孕性温存手術またはリンパ節切除術)と有意に関連していた。

(4)予後に影響する臨床的および分子的因子

FOXL2 および TERT promoter を含む予後に影響する因子については、依然として議論の余地がある。これらの変異の予後的意義を明らかにするために、61例の MP-aGCT の予後解析を行った。臨床病期 ($P = 0.016$)(図4-a)および高齢 ($P = 0.012$)(図4-b)は、先に述べたように、PFSの短縮と有意に関連していた。対照的に、腫瘍の大きさ、術式、リンパ節切除を含む他の臨床パラメータはPFSと関連していなかった。FOXL2 遺伝子変異を有する患者はPFSが短い傾向を示した(図4-c)。TERT promoter 変異とPFSの間に予後を決定する有意性は、我々のコホートでは確認されなかった(図4-d)。

aGCT などの希少癌は症例の蓄積が困難であり臨床試験を行う事も困難であるため、限られた知見の中で腫瘍の性質を明らかにする事が重要である。このような状況において、aGCT 特異的な FOXL2 変異や TERT promoter の変異が予後に相関するという報告は、機能解析や新規バイオマーカー同定の足がかりとなるものであり、本研究においてこれを日本人コホートで検証した事は日本における aGCT 研究を進める上で重要である。

図 1

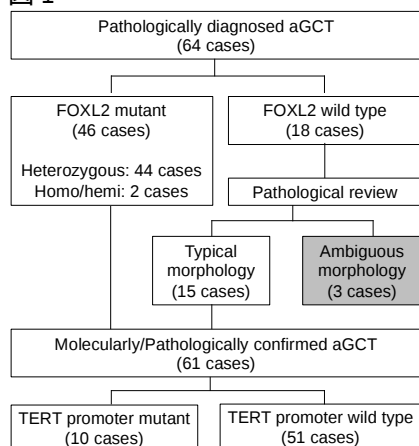


図 2-a)

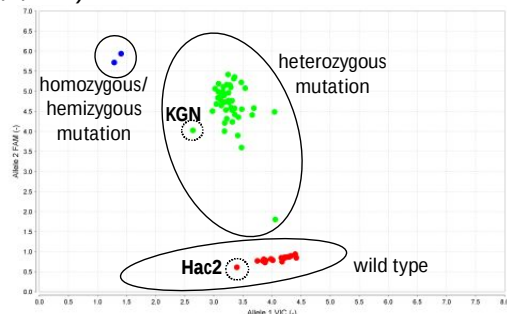
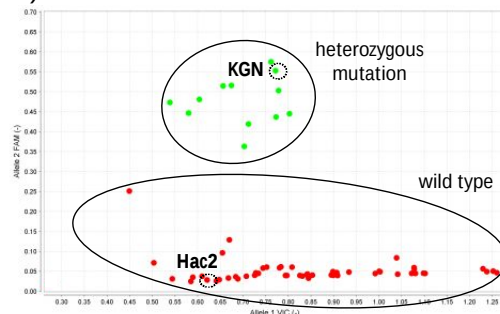
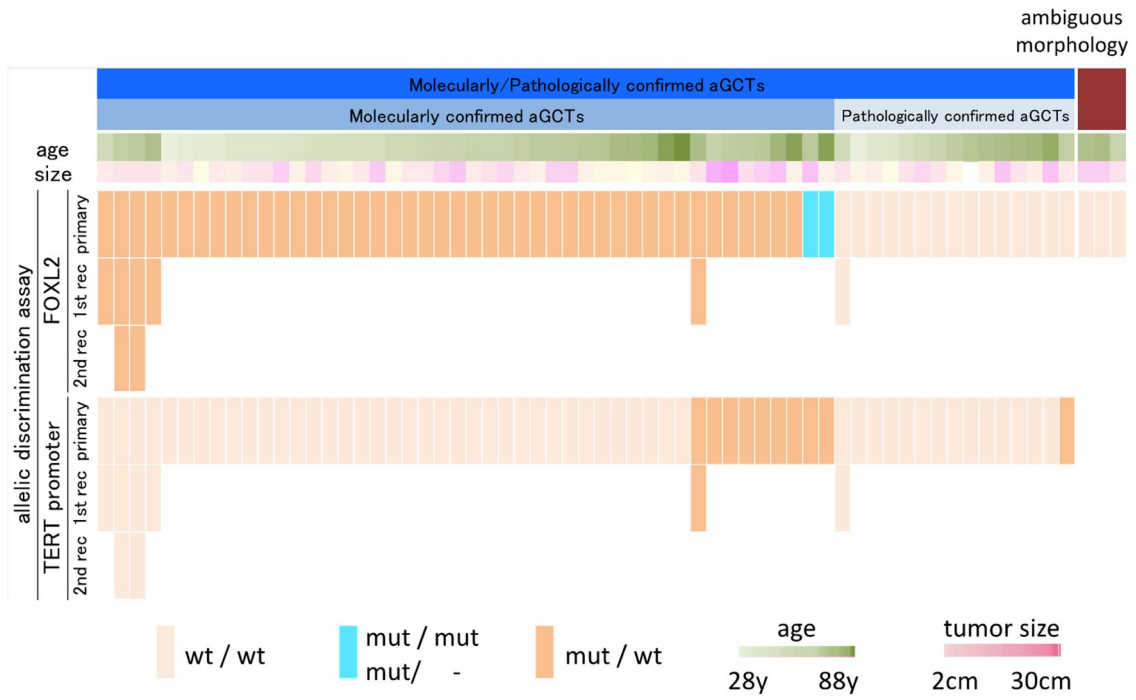


図 2-b)



3



4

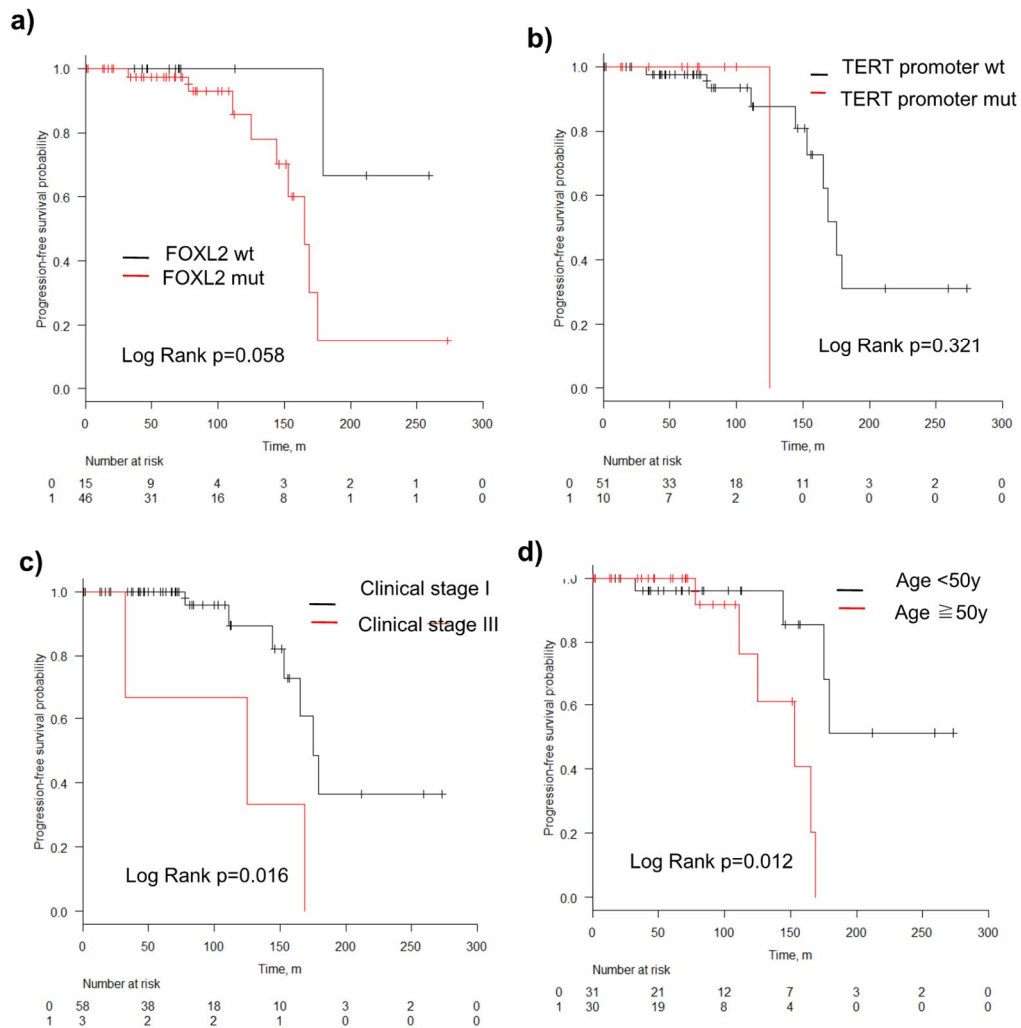


表 1

Characteristic	Total	FOX L2			TERT promoter		
		wt	mut	p value	wt	mut	p value
No. of case	61	15(25)	46(77)		51(84)	10(16)	
Age, y Median (IQR)	47(40-56)	50(40-59)	47(40-54)	0.99*	46(38-55)	53(51-64)	0.015
Stage FIGO2009 , No. (%)							
I	58(95)	15(25)	43(70)	0.57	51(84)	9(15)	0.42
III	3(5)	0(0)	3(5)		0(0)	1(2)	
Type of surgery, No. (%)							
Fertility sparing	22(36)	6(10)	16(26)	0.763	22(36)	0(0)	0.005
Others	39(64)	9(15)	30(49)		28(46)	11(18)	
Lymphadenectomy	11(18)	1(2)	10(16)	0.27	2(5)	9(15)	<0.001
Tumor size, cm Median (IQR)	9(6-14)	9(5.5-10.3)	9(6-14)	0.53*	9(6-10.3)	14.5(9.3-21)	<0.001
Residual tumor, No. (%)							
Yes	1(2)	0(0)	1(2)	1	0(0)	0(0)	1
No	60(98)	15(25)	45(74)		51(84)	10(16)	
Adjuvant chemotherapy, No. (%)							
Yes	4(7)	1(2)	3(5)	1	3(5)	1(2)	0.52
No	57(93)	14(23)	43(70)		48(79)	9(15)	
Recurrence, No. (%)							
Yes	10(16)	1(2)	5(8)	0.43	5(8)	1(2)	1
No	51(84)	14(23)	37(61)		42(69)	9(15)	
Deaths, No. (%)	0(0)	0(0)	0(0)		0(0)	0(0)	
Follow up duration,							
m Median (IQR)	73(43-135)	72(46-116)	80(43-145)	0.74*	79(44-156)	69(41-88)	0.17
No. of recurrent case, No. (%)	10(16)	1(2)	9(15)	0.43	9(15)	1(2)	1
Time to recurrence,							
m Median (IQR)	149(115-168)	179	144(111-165)	0.34*	153(111-169)	125	0.87

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1 . 発表者名 Y Shoburu*, S Yanagida, T Kiyokawa, M Iwamoto, E Suzuki, D Noguchi, R Kaya, S Hirose, T Kuroda, A Kawabata, K Takahashi, Y Iida, N Yanaihara, H Takano, K Yamada, S Nlimi, M Saitou, M Takenaka, A Okamoto
2 . 発表標題 CLINICOPATHOLOGICAL SIGNIFICANCE OF FOXL2 AND TERT PROMOTER MUTATIONS IN ADULT TYPE GRANULOSA CELL TUMOR OF THE OVARY
3 . 学会等名 International Gynecologic Cancer Society 2020 (国際学会)
4 . 発表年 2020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
---------	---------