

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09472

研究課題名(和文)オルガノイド、網羅的遺伝子解析を駆使した子宮内膜脱分化癌の発生、進展機構の解明

研究課題名(英文)Analyses of carcinogenesis in dedifferentiated endometrial carcinoma by using organoid and whole genome sequencing.

研究代表者

中山 健太郎 (Nakayama, Kentaro)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：70346401

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：子宮脱分化型類内膜癌(dedifferentiated endometrial carcinoma: DDEC)はGrade 1, 2の高分化型類内膜癌と未分化癌が混在する腫瘍でGrade 3の類内膜腺癌よりも予後不良とされる。そのため、新たな治療戦略の開発が急務である。本研究では本邦におけるDDECのし全発生頻度、他の組織型に比べて極めて予後不良であることが明らかとなった。さらに、組織学的に脱分化の部分では遺伝子変異量：Tumor mutation burden(TMB)が極めて増加しており、免疫チェックポイント阻害剤が有効である可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮脱分化型類内膜癌は2006年にSilvaらにより提唱された新しい概念、分類である。Grade 1, 2の高分化型類内膜癌と未分化癌が混在する腫瘍と定義され、2014年のWHO改定で新たに分類された。臨床病理学的、予後に関して詳細な検討は世界でもなされておらず、未だ不明な点が多い。しかし、本研究によっても他の組織型に比べて極めて予後不良であることが明らかとなった。さらに、組織学的に脱分化の部分では遺伝子変異量：Tumor mutation burden(TMB)が極めて増加しており、免疫チェックポイント阻害剤が有効である可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：DDEC (dedifferentiated endometrial carcinoma: DDEC) is a tumor that is a mixture of grade 1 and 2 highly differentiated endometrial carcinoma and undifferentiated carcinoma and has a worse prognosis than grade 3 endometrial adenocarcinoma. DDEC is a newly introduced concept in the 2014 WHO classification, and is thought to be a process of dedifferentiation of highly differentiated adenocarcinoma into undifferentiated carcinoma, but the molecular mechanism is still unknown. In this study, we found that DDEC is more common than other histologic types in Japan and has an extremely poor prognosis compared to other histologic types. In addition, the Tumor Mutation Burden (TMB) was extremely increased in histologically dedifferentiated areas of DDEC, indicating that immune checkpoint inhibitors may be effective.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮体癌 脱分化癌 オルガノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮脱分化型類内膜癌 (dedifferentiated endometrial carcinoma: DDEC) は 2006 年に Silva らにより提唱された新しい概念、分類である。Grade 1, 2 の高分化型類内膜癌と未分化癌が混在する腫瘍と定義され、2014 年の WHO 改定で新たに分類された。Grade 3 の類内膜癌よりも予後不良と報告されているが、臨床病理学的、予後に関して詳細な検討は世界でもなされておらず、未だ不明な点が多い。さらに、その発生の関わる分子生物学的解析はほとんどなく、発生、脱分化に関わる分子機構は不明であり、治療標的も不明である。DDEC は 2014 年の WHO 改定で新たに分類された腫瘍で、その臨床病理学的、予後に関する特徴を詳細に解析した報告はない。さらに、その発生から進展の各段階に関わる遺伝子異常を解析した報告もない。DDEC は高分化型類内膜癌と未分化癌が混在する腫瘍であり、Type I と Type II の子宮内膜癌が混在していると考えられるが、ホルモンレセプター (ER, PR) の発現状態や p53 の状態も不明である。Grade 3 の類内膜癌よりも予後が不良といった報告はあるが、症例数が少なく、いまだ明らかとなっていない。さらにその発生、および進展、脱分化機構に関わる遺伝子異常に至っては網羅的な遺伝子解析が全くなされていないのが現状である。

2. 研究の目的

DDEC の臨床病理学的、予後に関する特徴を明確にし、その発生から進展の各段階に関わる遺伝子異常を明確にする。さらに、DDEC のオルガノイド培養を確立し、Genotype-matched therapy、癌代謝経路阻害を含めた、治療法モデルシステムを構築し、DDEC の治療成績向上に寄与する。

3. 研究の方法

当科関連病院から DDEC 症例を追加し、合計 35-40 例程度集積する予定である。既存の G3 の類内膜癌やがん肉腫症例と臨床病理学的因子 (患者年齢、手術進行期、筋層浸潤、脈管侵襲、リンパ節転移、抗がん剤感受性等) について比較検討し、DDEC の特徴を明確にする。さらに免疫染色 (p53, ARID1A, PTEN, ER, PR 等) を行い、病理学的特徴を明確にする。

凍結検体が保存されている DDEC7 症例を用いて、全エクソシーケンス (WES) 解析および RNA シークエンス (RNAseq) 解析、遺伝子発現解析を高分化癌成分、未分化癌成分でそれぞれ個別に解析を行う。RNAseq を行うことで融合遺伝子の検索も同時に行える。高分化癌成分、未分化癌成分に共通な遺伝子異常は発生初期に関わるイベントであり、未分化癌成分のみで同定された遺伝子異常は腫瘍の脱分化に関わるイベントと想定される。

術前の子宮内膜組織診断で高分化癌成分と未分化癌成分が混在するパターンを示した場合は、手術検体ももちいて術後直ちにオルガノイド培養を開始する。オルガノイド培養が確立されたら、他の組織グレード (G1, G2, G3) のオルガノイドとの抗がん剤感受性の相違について検討する。さらに WES 解析で得られた Actionable 変異、Druggable 変異の情報を基に Genotype-matched therapy の前臨床モデルとして 3 次元培養での分子標的薬感受性試験を行い、DDEC の新規治療法を検討する。

上記 DDEC オルガノイドを用いて、発癌過程における糖代謝亢進、乳酸産生増加等の代謝制御機構の変化を TMRM アッセイ (ミトコンドリア機能評価)、NBDG アッセイ (グルコース取り込み評価) にて、他の組織グレードのオルガノイド細胞と比較することで代謝系の相違を検討し、がん代謝経路阻害の新規治療法を探索する。

4. 研究成果

当科では脱分化癌 18 例と G1/G2 類内膜癌 273 例、G3 類内膜癌 41 例、癌肉腫 34 例、その他の組織型の子宮体癌 49 例(漿液性癌 30 例、明細胞癌 10 例、粘液性癌 8 例、扁平上皮癌 1 例)における無増悪生存期間(PFS: Progression-Free Survival)と全生存期間(OS)を解析したところ、脱分化癌の 10 年 PFS は 40%程度、10 年 OS は 30%程度であり、G1/G2 類内膜癌、G3 類内膜癌、その他の組織型と比較して有意に予後不良であった(未 unpublished data、投稿準備中)。また癌肉腫と比較しても有意差はないものの、予後不良な傾向を示した。

DDEC3 例で正常部、高分化癌、脱分化癌部分で全エクソン解析を行った。その結果、脱分化癌部分では高度に TMB が増加しており、脱分化癌部分は遺伝子異常の蓄積が高度であった。さらにその原因遺伝子を数個突き止め、現在確認中である。また、脱部癌のオルガノイドは完成しておりヌードマウス移植で高分化癌部分と脱分化癌成分が混在した腫瘍ができた。現在、種々の薬剤感受性試験を行っている。これらの成果は英文投稿予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Yamashita Hitomi, Nakayama Kentaro, Kanno Kosuke, Ishibashi Tomoka, Ishikawa Masako, Sato Seiya, Iida Koji, Razia Sultana, Kyo Satoru	4. 巻 45
2. 論文標題 Identifying the Carcinogenic Mechanism of Malignant Struma Ovarii Using Whole-Exome Sequencing and DNA Methylation Analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Issues in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 1843 ~ 1851
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cimb45030118	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 Sasamori Hiroki, Nakayama Kentaro, Razia Sultana, Yamashita Hitomi, Ishibashi Tomoka, Ishikawa Masako, Sato Seiya, Nakayama Satoru, Otsuki Yoshio, Fujiwaki Ritsuto, Ishikawa Noriyoshi, Kyo Satoru	4. 巻 29
2. 論文標題 Mutation Profiles of Ovarian Seromucinous Borderline Tumors in Japanese Patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Oncology	6. 最初と最後の頁 3658 ~ 3667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/curroncol29050294	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 Kyo Satoru, Kanno Kosuke, Takakura Masahiro, Yamashita Hitomi, Ishikawa Masako, Ishibashi Tomoka, Sato Seiya, Nakayama Kentaro	4. 巻 14
2. 論文標題 Clinical Landscape of PARP Inhibitors in Ovarian Cancer: Molecular Mechanisms and Clues to Overcome Resistance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2504 ~ 2504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14102504	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 Nakayama Naomi, Nakayama Kentaro, Ishibashi Tomoka, Katayama Satoru, Kyo Satoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Effect of Muscle Loss but Not Fat Loss during Primary Debulking Surgery and Chemotherapy on Prognosis of Patients with Ovarian Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3184 ~ 3184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm11113184	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 Shanta Kamrunnahar, Nakayama Kentaro, Hossain Mohammad Mahmud, Razia Sultana, Ishibashi Tomoka, Ishikawa Masako, Yamashita Hitomi, Kanno Kosuke, Sato Seiya, Nakayama Satoru, Otsuki Yoshiro, Kyo Satoru	4. 巻 29
2. 論文標題 Promising Therapeutic Impact of a Selective Estrogen Receptor Downregulator, Fulvestrant, as Demonstrated In Vitro upon Low-Grade Serous Ovarian Carcinoma Cell Lines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Oncology	6. 最初と最後の頁 4020 ~ 4033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/curronc129060321	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 Dey Puja, Nakayama Kentaro, Razia Sultana, Ishikawa Masako, Ishibashi Tomoka, Yamashita Hitomi, Kanno Kosuke, Sato Seiya, Kiyono Tohru, Kyo Satoru	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of Low-Grade Serous Ovarian Carcinoma from Benign Ovarian Serous Cystadenoma Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1506 ~ 1506
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14061506	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 Sawada Kiyoka, Nakayama Kentaro, Nakamura Kohei, Yoshimura Yuki, Razia Sultana, Ishikawa Masako, Yamashita Hitomi, Ishibashi Tomoka, Sato Seiya, Kyo Satoru	4. 巻 9
2. 論文標題 Clinical Outcomes of Genotype-Matched Therapy for Recurrent Gynecological Cancers: A Single Institutional Experience	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Healthcare	6. 最初と最後の頁 1395 ~ 1395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/healthcare9101395	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 Ishikawa Masako, Nakayama Kentaro, Yamashita Hitomi, Ishibashi Tomoka, Sato Seiya, Kurose Sonomi, Sawada Kiyoka, Sasamori Hiroki, Razia Sultana, Ishikawa Noriyoshi, Kyo Satoru	4. 巻 15
2. 論文標題 Underdiagnosis of early cervical cancer with an invisible cervical transformation zone in an elderly patient: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular and Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 不明
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mco.2021.2412	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 Ishikawa Masako, Nakayama Kentaro, Nakamura Kohei, Yamashita Hitomi, Ishibashi Tomoka, Minamoto Toshiko, Sawada Kiyoka, Yoshimura Yuki, Iida Kouji, Razia Sultana, Ishikawa Noriyoshi, Nakayama Satoru, Otsuki Yoshiro, Kyo Satoru	4. 巻 11
2. 論文標題 P16INK4A expression might be associated with a favorable prognosis for cervical adenocarcinoma via dysregulation of the RB pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 不明
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-97703-8	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 Kurose Sonomi, Nakayama Kentaro, Razia Sultana, Ishikawa Masako, Ishibashi Tomoka, Yamashita Hitomi, Sato Seiya, Sakiyama Asuka, Yoshioka Shinya, Kobayashi Misa, Nakayama Satoru, Otsuki Yoshiro, Ishikawa Noriyoshi, Kyo Satoru	4. 巻 9
2. 論文標題 Whole-Exome Sequencing of Rare Site Endometriosis-Associated Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diseases	6. 最初と最後の頁 14 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diseases9010014	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4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Nakayama K
2. 発表標題 Comprehensive genetic analysis and novel therapeutic approach in low-grade serous ovarian carcinoma.
3. 学会等名 The 7th Asian Society of Gynecologic Oncology, 2022, International Workshop (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 卵巣低異型度漿液性癌の包括的解析と新たな治療戦略 中山健太郎, 石川雅子, 山下瞳, 石橋朋佳, 佐藤誠也, 菅野晃輔, 島田愛里香, 中川恭子, スルタナラジア, プジャデー, 京哲.
2. 発表標題 卵巣低異型度漿液性癌の包括的解析と新たな治療戦略
3. 学会等名 第36回 日本臨床細胞学会中国四国連合総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中山家太郎, 山下瞳, 石橋朋佳, 石川雅子, スルタナラジア, モハメドフセイン, プジャディ, 菅野晃輔, 佐藤誠也, 清野透, 京哲
2. 発表標題 卵巣がん in vitro 発癌モデルを駆使した個別化医療への展開
3. 学会等名 第62回日本婦人科腫瘍学会, シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山健太郎, 黒瀬苑水, 山下瞳, 石川雅子, 石橋朋佳, 崎山明香, 吉岡信也, 小林美沙, 中山理, 大槻寛郎, 京哲.
2. 発表標題 稀少部位子宮内膜症の悪性転化例の発癌機構解析
3. 学会等名 第43回日本エンドメトリオオーシス学会, シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

婦人科腫瘍研究室 http://www.shimane-u-obgyn.jp/study/837

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
---------	---------