

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462609

研究課題名(和文)脂質および糖代謝動態の探索による子宮体癌分子機構の解明

研究課題名(英文)Biological characteristics of endometrial cancer with lifestyle-related diseases.

研究代表者

平沢 晃(Hirasawa, Akira)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：90296658

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は子宮体癌と生活習慣病発症に共通して潜在する遺伝因子と環境因子を統合的に解釈し、子宮体癌と生活習慣病の個別化予防法に結びつけることを目的とした。検討の結果、1)子宮体癌例ではBSO施行時期が閉経前後のいかんにかかわらず、高TG血症と診断された例が有意に高頻度であった。2)非子宮体癌例では骨粗鬆症と高TG血症と関連するものの、子宮体癌例では高TG血症を有する骨粗鬆症は有意に低頻度であった。3)BSO施行例を対象に、エストロゲン代謝関連遺伝子多型(ESR1, UGT2B17, UGT1A1)と骨粗鬆症との関連を検討したところ、遺伝子多型と骨粗鬆症の有無に関連を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to reveal relationship between environmental factors and genetic factors in endometrial cancer survivors. We recruited clinical informations and samples from menopause clinic, Keio University Hospital, Tokyo, Japan. Our results revealed 1)Hypertriglyceridemia was statistically more frequent in patients who had undergone bilateral salpingo-oophorectomy both before and after menopause than in the corresponding non-endometrial cancer controls, 2) Osteoporosis was associated with hypertriglyceridemia in post-menopausal women without endometrial cancer, but was less frequent in endometrial cancer survivors with hypertriglyceridemia, and 3) No significant association was found between osteoporosis and polymorphisms in ESR1, UGT2B17, or UGT1A1 in both groups, suggesting that BSO might be a more significant physiological factor in influencing bone mass density compared to genetic variations.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮体癌 脂質異常症 がん代謝 QOL ドラッグリポジショニング 女性ヘルスケア

1. 研究開始当初の背景

子宮体癌の危険因子として生活習慣病の関与が示唆されている。子宮体癌治療では両側卵巣卵管摘出術 (bilateral salpingo-oophorectomy:BSO) が標準治療に含まれており、BSO 施行後のがんサバイバーではエストロゲンが欠乏することにより脂質異常症や骨粗鬆症罹患率が上昇し、将来的にはそれらに起因する寝たきりの高危険群となることが予測される。子宮体癌罹患数の増加と集学的治療法の進歩は、将来におけるがんサバイバーが増加することを意味しており、このような症例に対して系統的に早期介入する体制を確立することは喫緊の課題であるという背景がある。

2. 研究の目的

がんや生活習慣病は多因子遺伝疾患であり、環境因子と遺伝因子の双方がその発症に関与している。BSO は急速な血中卵巣由来女性ホルモンの低下をきたす環境因子として位置づけられるが、遺伝因子と BSO の相互作用については明らかでない。

このような背景のもと本研究では子宮体癌をモデルに、生活習慣病発症に関わる遺伝因子と環境因子を統合的に解釈し、最終的に中高年時における QOL 低下に対する個別化予防法に結びつけることを目的とした。

3. 研究の方法

慶應義塾大学医学部産婦人科女性健康維持外来受診例および慶應義塾大学病院産婦人科バイオバンク (Keio Women's Health Biobank: KWB) に保管されている試料を対象に後方視的に検討した。

初診時の総合的な自覚症状評価として卵巣ホルモン低下に関連する症状の自己チェックリスト (慶應式女性健康維持外来調査票) に記載してもらい、基礎疾患・卵巣摘出年齢・閉経後期間・身長・体重・BMI・骨折歴・骨粗鬆症や骨折の家族歴、喫煙の有無・ステロイド投与の有無・飲酒歴およびビタミン K 摂取頻度等の問診を行った。

臨床検査として全血算 (CBC) 総コレステロール (TC)、LDL コレステロール (LDL-C)、HDL コレステロール (HDL-C)、中性脂肪 (TG)、LDL-C/ HDL-C 比などの各種血清脂質、甲状腺機能、ヘモグロビン A1c (HB-A1c)、Body Mass Index (BMI)、骨代謝マーカー、および骨密度の測定を行った。脂質異常症の診断は動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版 (日本動脈硬化学会)、骨粗鬆症の診断は原発性骨粗鬆症の診断基準 (2012 年度改訂版) (日本骨代謝学会) を用いた。

遺伝因子は KWB に保管されている試料を用いて、エストロゲン代謝に関連していることが知られている遺伝子の多型を検討した。検討した多型は *ESR1* (estrogen receptor と *UGT2B17* (UDP-glucuronosyltransferase 2B17) のコピー数多型 (copy number

variation: CNV) および *UGT1A1* (UDP-glucuronosyltransferase 2B17) 遺伝子の多型 (*6, *27, *28, *60) とした (表 1)。*ESR* および *UGT2B17* の 2 遺伝子の CNV は TaqMan® Copy Number Assays (Applied Biosystems 社) を用いた定量 PCR にて、*UGT1A1**6, *27, *28 はインベーター法で、*UGT1A1**60 はダイレクトシーケンズ法で検出した。

さらに若年子宮体癌の妊孕性温存希望例に対しては高用量 MPA (medroxyprogesterone acetate) 療法が行われているが、その奏効は個人差が大きい。KWB に保管されているがん組織 DNA と germline DNA のペアサンプルを用いて、次世代シーケンサーを用いて体細胞ゲノム異常を検出し、子宮体癌と生活習慣病に共通するパスウェイを検出して、生活習慣病治療薬を用いた子宮体癌に対するドラッグリポジショニングの可能性につき検討した。

遺伝子多型	多型の種類
<i>ESR1</i> exon 5	Copy number variation
<i>UGT2B17</i> intron 2	Copy number variation
<i>UGT1A1</i> *6 211G>A	Single nucleotide polymorphism
<i>UGT1A1</i> *27 686C>A	Single nucleotide polymorphism
<i>UGT1A1</i> *28 A(TA) _n TAA	TA repeat
<i>UGT1A1</i> *60 -3263T>A	Single nucleotide polymorphism

(表 1) エストロゲン代謝関連遺伝子と遺伝子多型

4. 研究成果

(1) BSO 施行女性における血清脂質値の特性に関する検討

BSO 施行女性 693 名を対象として基礎疾患・閉経前 BSO 例では BSO からの時期・閉経後 BSO 例では閉経からの時期・BMI と血清脂質値を比較した。基礎疾患の内訳は子宮体癌 412 例、卵巣癌 146 例、子宮頸癌 39 例、子宮筋腫または子宮内膜症 51 例、その他 15 例であった。BSO 施行時期は閉経前 350 例、閉経後 343 例であった。子宮体癌例では非子宮体癌例と比較して、BSO 施行時期が閉経前後のいかににかかわらず、TG 値が有意に高く (図 1: Mann-Whitney U 検定, $P < 0.0001$)、高 TG 血症 (TG 150mg/dl) と診断された例が有意に高頻度であった ($P < 0.05$)。その他の因子では閉経前 BSO 例・閉経後 BSO 例共に子宮体癌例では非子宮体癌例と比較して、BMI 高値例が有意に多かった ($P < 0.05$) (Hirasawa A et al. *Jpn J Clin Oncol* 2013)。

(2) 中高年女性における脂質異常症と骨粗鬆症の相関に関する検討

閉経後女性 179 名を対象に、血清脂質値と骨粗鬆症の関連につき検討し、さらに子宮体癌例 (114 例) と非子宮体癌例 (62 例) に分けてサブ解析を行った。非子宮体癌高 TG 血症例では骨粗鬆症例が有意に高頻度であった ($P < 0.05$) のに対して、子宮体癌高 TG 血症例では骨粗鬆症例が有意に少ないことが

判明した ($P < 0.05$)。LDL-C、LDL-C/HDL-C 比と骨粗鬆症の有無の間に相関を認めなかった(Hirasawa A et al. *Jpn J Clin Oncol* 2015)。骨粗鬆症は非子宮体癌例では高 TG 血症と相関するものの、高 TG 血症を有する子宮体癌例では骨粗鬆症が有意に低頻度であった。

(3) 卵巣摘出女性におけるエストロゲン代謝関連遺伝子の骨粗鬆症の関与に関する検討

BSO を施行した 203 例(閉経前 BSO 施行 126 例、閉経後 BSO 施行 77 例)を対象に、エストロゲン代謝関連遺伝子多型と骨粗鬆症との関連を検討したところ、検討したすべての遺伝子多型と骨粗鬆症の有無に相関を認めなかった(Yokota M, Hirasawa A et al. *Menopause Review* 2015)。

(4) 45 歳以下の若年子宮体癌症例を対象として次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異解析を行った。癌関連遺伝子に特化した 48 遺伝子の Hot Spot 領域を増幅し、高感度に遺伝子変異を变出するアッセイ法である TruSeq Amplicon Cancer Panel R (illumina : Cancer Panel) にてがんゲノム異常を同定を行った。子宮体癌に特徴的であることが予測される遺伝子を検絞り込み、頻度の高い候補遺伝子を特定した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

1. Yokota M, Hirasawa A, Makita K, Akahane T, Sakai K, Makabe T, Horiba Y, Yamagami W, Ogawa M, Iwata T, Yanamoto S, Deshimaru R, Banno K, Susumu N, Aoki D. Polymorphisms of estrogen metabolism-related genes *ESR1*, *UGT2B17*, and *UGT1A1* are not associated with osteoporosis in artificial menopausal Japanese women. *Menopause Review* (査読あり) 2015; 14(3): 161-167. doi: 10.5114/pm.2015.54339. Epub 2015 Sep 30.
2. Iwadate R, Inoue J, Tsuda H, Takano M, Furuya K, Hirasawa A, Aoki D, Inazawa J. High Expression of p62 Protein Is Associated with Poor Prognosis and Aggressive Phenotypes in Endometrial Cancer. *Am J Pathol* (査読あり) 2015; 185(9): 2523-2533. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.05.008. Epub 2015 Jul 7.
3. Suemori T, Susumu N, Iwata T, Banno K, Yamagami W, Hirasawa A, Sugano K, Matsumoto E, Aoki D. Intratumoral CD8+ Lymphocyte Infiltration as a Prognostic Factor and Its Relationship With Cyclooxygenase 2 Expression and Microsatellite Instability in Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Cancer* (査読あり) 2015;

25(7): 1165-1172. doi: 10.1097/IGC.0000000000000482.

4. Hirasawa A, Makita K, Akahane T, Yamagami W, Makabe T, Yokota M, Horiba Y, Ogawa M, Yanamoto S, Deshimaru R, Tominaga E, Banno K, Susumu N, Aoki D. Osteoporosis is less frequent in endometrial cancer survivors with hypertriglyceridemia. *Jpn J Clin Oncol* (査読あり) 2015; 45(1): 127-131. doi: 10.1093/jjco/hyu164. Epub 2014 Oct 16.
5. 平沢 晃, 増田健太, 青木大輔. 遺伝性乳癌卵巣癌、Tumor syndrome; 臨床画像 2015; 31(10): 220-221.
6. 植木有紗, 増田健太, 平沢 晃, 中田さくら, 青木大輔. 卵巣癌, 家族性腫瘍学-家族性腫瘍の最新研究動向- 臓器・領域別家族性腫瘍の臨床 日本臨床(査読なし) 2015; 73(6): 462-466.
7. 平沢 晃, 増田健太, 青木大輔. *BRCA1/2* 遺伝子変異保持者に対するリスク低減卵巣卵巣摘出術とサーベイランス; 遺伝性乳癌卵巣癌のマネージメント. 産科と婦人科(査読なし) 2015; 82(6): 639-643.
8. 平沢 晃, 増田健太, 青木大輔. 遺伝性乳癌卵巣癌の遺伝子検査. 産科と婦人科(査読なし) 2015; 82(Sup): 202-205.
9. Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Ueki A, Yokota M, Tsuruta T, Nomura H, Kataoka F, Tominaga E, Banno K, Makita K, Susumu N, Sugano K, Kosaki K, Kameyama K, Aoki D. Family history and *BRCA1/BRCA2* status among Japanese ovarian cancer patients and occult cancer in a *BRCA1* mutant case. *Jpn J Clin Oncol* (査読あり) 2014; 44(1) 49-56. doi: 10.1093/jjco/hyt171. Epub 2013 Nov 11.
10. Hirasawa A, Zama T, Akahane T, Nomura H, Kataoka F, Saito K, Okubo K, Tominaga E, Makita K, Susumu N, Kosaki K, Tanigawara Y, Aoki D. Polymorphisms of *UGT1A1* gene predict adverse effects of irinotecan treatment for gynecologic cancer in Japanese. *J Hum Genet* (査読あり) 2013; 58(12): 794-798. doi: 10.1038/jhg.2013.105. Epub 2013 Oct 3.
11. Hirasawa A, Makita K, Akahane T, Yokota M, Yamagami W, Banno K, Susumu N, Aoki D. Hypertriglyceridemia is frequent in endometrial cancer survivors. *Jpn J Clin Oncol* (査読あり) 2013; 43(11): 1087-1092. doi: 10.1093/jjco/hyt125. Epub 2013 Sep 1.
12. 平沢 晃, 青木大輔. 生殖医療におけるカウンセリング 遺伝性乳癌・卵巣

癌女性への遺伝カウンセリング. 産科
と婦人科(査読なし) 2013; 80 (11):
1465-1472.

[学会発表](計 16 件)

- 1 . Hirasawa A, Aoki D. Ovarian cancers with *BRCA1/2* mutations. The 31st Nagoya International Cancer Treatment Symposium 2016.2.13-14 愛知県がんセンター(愛知県名古屋市)
- 2 . 平沢 晃, 青木大輔. 発癌リスクの層別化と個別化予防法の確立を目指して. 第4回日本HBOCコンソーシアム学術総会 2016.1.24 コクヨホール(東京都港区)
- 3 . Hirasawa A, Aoki D. Collaboration and future clinical trial of hereditary gynecologic cancer. 2016 Korean Society of Gynecologic Oncology; Hereditary Gynecologic Cancer Symposium 2016.1.9 (Souel, Korea)
- 4 . 横田めぐみ, 平沢 晃, 牧田 和也, 堀場裕子, 岩田 卓, 青木大輔. 遺伝性乳癌卵巣癌に対するリスク低減卵管卵巣摘出術後のヘルスケアに関する検討. 第1回日本産科婦人科遺伝診療学会学術講演会 2015.12.18-19 長崎ブリックホール(長崎県長崎市)
- 5 . 赤羽智子, 平沢 晃, 増田健太, 真壁 健, 坂井健良, 吉浜智子, 山上 亘, 野村弘行, 片岡史夫, 阪埜浩司, 進 伸幸, 青木大輔. 婦人科疾患バイオバンクの現状と家族性腫瘍のスクリーニングに関する検討. 第1回日本産科婦人科遺伝診療学会学術講演会 2015.12.18-19 長崎ブリックホール(長崎県長崎市)
- 6 . Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Ninomiya T, Yamagami W, Nomura H, Kataoka F, Banno K, Susumu N, Aoki D. Profiling of epithelial ovarian cancer with BRCAness status. The 4th Biennial Meeting of Asian Society of Gynecologic Oncology 2015.11.12-14 (Souel, Korea)
- 7 . 平沢 晃, 牧田和也, 横田めぐみ, 堀場裕子, 岩田卓, 小川真里子, 柳本茂久, 弟子丸亮太, 高松 潔, 青木大輔. *BRCA1/2* 遺伝子変異保持者に対するリスク低減卵管卵巣摘出後の QOL に関する検討. 第30回日本女性医学学会学術集会 2015.11.7-8 メルパルク名古屋(愛知県名古屋市)
- 8 . 横田めぐみ, 平沢 晃, 牧田和也, 堀場裕子, 岩田 卓, 小川真里子, 柳本茂久, 弟子丸亮太, 高松 潔, 青木大輔. リスク低減卵管卵巣摘出術後の卵巣欠落症状に対する漢方療法に関する検討. 第35回産婦人科漢方研究会学術集会 2015.9.13 ベルサール九段(東京都千代田区)
- 9 . 平沢 晃, 青木大輔. *BRCA1/2* 遺伝子検査と産婦人科臨床 第57回日本婦人科腫瘍学会学術講演会(ワークショップ) 2015.8.7-9 アイーナいわて県民情報交流センター、マリオス盛岡地域交流センター(岩手県盛岡市)
- 10 . 赤羽智子, 平沢 晃, 増田健太, 片岡史夫, 富永英一郎, 阪埜浩司, 進 伸幸, 田中 守, 青木大輔. *BRCA1/2* 遺伝子生殖細胞変異例における良性卵管上皮細胞の p53 蛋白発現と TP53 遺伝子変異の意義. 第67回日本産科婦人科学会学術講演会(ミニワークショップ) 2015.4.9-12 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- 11 . Murumägi A, Hirasawa A, Arjama M, Välimäki K, Bhagwan Y, Tang J, Szwajda A, Turunen L, JP Mpindi, Pellinen T, Wennerberg K, Bützow R, Aittokallio T, Kallioniemi O. Novel therapeutic possibilities for chemorefractory ovarian cancer patients identified by functional ex vivo drug sensitivity testing of primary cells from ascites. AACR Annual Meeting 2015 2015.4.18-22 (Philadelphia, USA)
- 12 . 平沢 晃, 増田健太, 赤羽智子, 片岡史夫, 富永英一郎, 阪埜浩司, 進 伸幸, 菅野康吉, 小崎健次郎, 青木大輔. 遺伝性腫瘍の発症前診断とサーベイランスおよび予防的介入 *BRCA1/2* 遺伝子変異保持者に対するリスク低減卵管卵巣切除術. 平沢 晃, 増田健太, 赤羽智子, 片岡史夫, 富永英一郎, 阪埜浩司, 進 伸幸, 菅野康吉, 小崎健次郎, 青木大輔. 第59回日本人類遺伝学会・第21回日本遺伝子診療学会合同大会(シンポジウム) 2014.11.19-22 タワーホール船堀(東京都江戸川区)
- 13 . Hirasawa A, Murumägi A, Arjama M, Bhagwan Y, JP Mpindi, Arjama M, Wennerberg K, Aittokallio T, Aoki D, Kallioniemi O. High-throughput drug sensitivity and resistance testing of ovarian cancer cell lines provides useful strategy for assessing drug repositioning and therapeutic possibilities of emerging drugs. The 10th Biennial Ovarian Cancer Research Symposium 2014.9.8-9 (Seattle, USA)
- 14 . JP Mpindi, Bychkov D, Bhagwan Y, Malani D, Hirasawa A, Saeed K, Hultsch S, Kangaspeska S, Murumägi A, Heckman CA, Porkka K, Aittokallio T, Wennerberg K, Östling I P, Kallioniemi O. Drug Set Enrichment Analysis (DSEA): A Computational Approach to Identify Functional Drug Sets. AACR Annual Meeting 2014 2014.4.5-9 (San Diego, USA)

- 1 5 . Hirasawa A, Murumägi A, Bhagwan Y, JP
Mpindi, Arjama M, Wennerberg K,
Aittokallio T, Aoki D, Kallioniemi O.
Systematic high-throughput drug
sensitivity and resistance testing
(DSRT) of ovarian cancer cell lines
indicates novel therapeutic
possibilities with existing and
emerging drugs. AACR Annual Meeting
2014 2014.4.5-9 (San Diego, USA)
- 1 6 . Hirasawa A, Murumägi A, Yadav B,
Mpindi JP, Arjama M, Aittokallio T,
Wennerberg K, Aoki D, Kallioniemi O.
Development of a drug sensitivity
testing pipeline towards the
establishment of precision medicine
for ovarian cancer. AACR Special
Conference, Advances in Ovarian
Cancer Research: From Concept to
Clinic. 2013.9.18-21 (Miami, USA)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

平沢 晃 (HIRASAWA, Akira)

慶應義塾大学・医学部・専任講師

研究者番号：90296658

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし