

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670721

研究課題名(和文)難治性疾患”子宮びまん性平滑筋腫症”に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文)Genetic Analysis of uterine diffuse leiomyomatosis

研究代表者

小西 郁生 (Konishi, Ikuo)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90192062

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)：子宮びまん性平滑筋腫症(uterine diffuse leiomyomatosis, UDL)は非常に稀な疾患であり、その遺伝学的発生原因はいまだ明らかではない。近年のゲノムワイド解析が子宮筋腫発生を司る責任遺伝子の解明を進めたように、本研究でも自験例のFFPEサンプルを用いて遺伝学解析を行い、腫瘍発生メカニズムと新規治療開発ないし予防措置の探索を行うことを目的とした。

UDLはその病態ゆえ筋腫核が非常に小さく細胞密度も高くないためFFPEサンプルから十分なDNA量が得られず、研究期間中にはDNA解析は達成できなかったが、代替研究として卵巣明細胞癌と子宮肉腫の遺伝学解析を進め、成果を論文化した。

研究成果の概要(英文)：Uterine diffuse leiomatosis (UDL) is a rare disease entity, and genetic background is not clarified yet. As recent genome wide analysis revealed the driver genetic change through tumorigenesis of usual leiomyoma, genetic analysis was conducted using FFPE samples of UDL treated in our department.

Due to the limitation of DNA amount and quality, satisfactory analysis has not been completed so far, but as alternative projects, whole genome analysis of ovarian clear cell carcinoma and molecular analysis of uterine leiomyosarcoma was successfully completed, and several articles were published using this budget.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮筋腫 子宮肉腫 遺伝子解析

### 1. 研究開始当初の背景

子宮筋腫は子宮平滑筋に発育する良性腫瘍であり、50歳までに女性の7-8割に発生する。自製内の症状で推移することも多いが、筋腫で子宮内腔が変形している場合には月経痛・月経過多をきたし、不妊症や流早産の原因となる。子宮全摘で根治できるものの、妊孕能が失われるため、若年女性では筋腫核出術が選択される。びまん性子宮平滑筋腫症(uterine diffuse leiomyomatosis, UDL)は若年女性の子宮筋層内に無数の小筋腫がびまん性に増殖し、高度な月経随伴症状を来す子宮筋腫の特殊型である。子宮筋層を残すようにめばしいものを核出しても術後すぐに再発し、若くして子宮が摘出され挙児を得ないことが多い。UDLでは病態と若年という患者背景にあった独自の治療法が必要となる。また近年、全ゲノム解析にてMED12やHNGA2の発現変化と子宮筋腫発生の関与が明らかになったが、UDLは未解明であり、手術単独では限界のあるUDLに対する有効な治療法確立に向けてUDLの責任遺伝子の同定は必須であった。

### 2. 研究の目的

UDLの包括的ゲノム解析を通して責任遺伝子を同定し、UDLと子宮筋腫のバイオロジーを探る。さらに、子宮平滑筋腫とその悪性疾患である子宮平滑筋肉腫について遺伝子発現の対比解析を行い、悪性化のバイオロジーについても解明を試みる。

### 3. 研究の方法

FFPEサンプルを用いたエクソームシーケンシング解析にてUDLの責任遺伝子を明らかにした上で、マウスUDLモデルにて責任遺伝子の標的治療を行い、その妥当性を検討する。具体的には、UDLと正常子宮筋、通常筋腫のFFPEサンプルを用いてエクソームシーケンシングを行う、UDL特異的な変異やcopy numberの増幅が見られる増殖関連遺伝子の

うち、手術検体の免疫組織染色にて実際の発現変化が確認できたものを候補遺伝子として抽出する、候補遺伝子の発現を操作した子宮平滑筋細胞をNOD/SCIDマウスに移植、筋腫形成を検討する、筋腫形成が見られた遺伝子についてはマウスモデルで標的治療実験を行う、ことをプランニングして研究を開始した。

### 4. 研究成果

子宮びまん性平滑筋腫症(uterine diffuse leiomyomatosis, UDL)は100個以上の筋腫結節が子宮筋層にびまん性に増殖して高度な月経困難や月経過多症状を来す子宮筋腫の特殊型である。若年女性に好発し、妊孕性を保った管理法が求められるため、子宮筋腫の中でもとりわけ取扱いが困難であるが、病態の解明および適切な治療法の開発はまだ進んでいない。当科ではこれまでUDLに対して子宮を温存する治療に取り組み、研究期間に実際に妊娠に至った症例も経験したが、妊娠期間を全うすることは叶わず、妊娠に至るだけでは満足な治療転帰とは言えないことを実感している<sup>1</sup>。

とは言え、UDLは非常に稀な疾患であり、その遺伝学的発現原因はいまだ明らかではない。近年のゲノムワイド解析が子宮筋腫発生を司るMED12やHNGA2などの責任遺伝子の解明を進めた(Mehine M, N Engl J Med. 2013; Mäkinen N, Science, 2011)ように、本研究でも当科で過去に治療を行った症例を対象に遺伝学解析を行い、腫瘍発生メカニズムと新規治療開発ないし予防措置の探索を行うことで、UDLを患う若年女性が苦痛から解放され、健常児を得るための新しい道を切り開くことを目的とした。

まず、当科で治療を行ったUDLの症例のホルマリン固定した腫瘍サンプルから作成したパラフィン包埋切片(FFPEサンプル)上から個々の腫瘍のDNAを回収して解析する予定であったが、貴重なUDLサンプルを消費せぬ

よう平成 26 年度はまずサンプルの数および量の多い卵巣癌から DNA の回収を行った。DNA は比較的安定した遺伝子産物とされるが、結果として卵巣癌からも 3 割の症例でしか解析に足る DNA が回収できなかった。限定的なサンプル数となったものの平成 27 年度は回収した卵巣明細胞癌の DNA 解析を行い、16 番染色体の増幅が独立予後不良因子であることを見出した。他施設からのシーケンス解析でも同様の結果であることを確認し、現在論文投稿準備中である。また増幅領域に抗癌剤耐性にかかわる分子が含まれており、その分子が明細胞癌の難治性にかかわるかについて現在、さらに研究を進めている。当科サンプルから解析に足る DNA が得られにくかった原因としてホルマリン固定時間が長すぎたことと、UDL はその病態ゆえに一つ一つの筋腫核は非常に小さく、細胞密度が特別高いわけでもないことから、筋腫核から得られる DNA 量が極めて少なかったことが挙げられる。本研究期間には UDL の FFPE サンプルを用いた DNA 解析に至らなかったが、今後は症例を適切に蓄積し解析につなげていく予定である。

他方、子宮軟部腫瘍として UDL の対極にある子宮肉腫のバイオマーカー探索および機能解析を進め、複数の論文発表につなげた<sup>2-6</sup>。疾患モデルマウスの作成にも成功し<sup>3</sup>、今後、URL の責任遺伝子が明らかになれば URL のモデルマウス作成につなげたいと考えている。さらに、UDL の発生源地と考えられている子宮内膜直下の筋層浅部の機能を解明することを目的として、放射線科と共同で同部位の MRI 画像の解析を進め、論文化した<sup>7,8</sup>。また、病態の解明は日常臨床診療にこそあると考え、日々の診療で経験した稀有な症例を一つずつ報告し、また診療経験から得た病因や分類について、また新規治療薬として期待される選択的プロゲステロン受容体修飾薬についても報告を行った<sup>9-12</sup>。

以上、UDL の genetic analysis から新規治療法を開発するという所期の研究目標は達成できなかったものの、本研究助成により FFPE サンプルを用いた DNA 解析法の糸口を見出すとともに、子宮肉腫のバイオマーカー探索や、発生源地となる子宮の機能解析や稀有な子宮筋腫の取り扱いについて有意義な成果を得た。今後も引き続き UDL の分子形態学研究を進めることで、将来的に UDL を持つ女性も満期で健児を得られるよう、新規治療法の開発につなげることを目指したいと考えている。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

Iemura A, Kondoh E, Kawasaki K, Fujita K, Ueda A, Mogami H, Baba T, Konishi I. Expectant management of a herniated amniotic sac presenting as silent uterine rupture: a case report and literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(1):106-12.

Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Biological characterization of soft tissue sarcomas. *Ann Transl Med.* 2015;3(22):368.

Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Yaegashi N, Konishi I. Uterine Leiomyosarcoma Tumorigenesis in Lmp2-deficient Mice: Involvement of Impaired Anti-oncogenic Factor IRF1. *Anticancer Res.* 2015;35(9):4665-79.

Hayashi T, Ichimura T, Yaegashi N, Shiozawa T, Konishi I. Expression of CAVEOLIN 1 in uterine mesenchymal tumors: No

relationship between malignancy and CAVEOLIN 1 expression. Biochem Biophys Res Commun. 2015;463(4):982-7.

Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Sudo T, Ishiko O, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Potential diagnostic biomarkers: differential expression of LMP2/β1i and cyclin B1 in human uterine leiomyosarcoma. Tumori. 2014;100(4):99e-106e.

Hayashi T, Horiuchi A, Aburatani H, Ishiko O, Yaegashi N, Kanai Y, Zharhary D, Shiozawa T, Tonegawa S, Konishi I. Potential biomarker for human uterine leiomyosarcoma. J Clin Med Res. 2014;6(5):392-4.

Kido A, Fujimoto K, Matsubara N, Kataoka M, Konishi I, Togashi K. A Layer of Decreased Apparent Diffusion Coefficient at the Endometrial-Myometrial Junction in Uterine Adenomyosis. Magn Reson Med Sci. 2016;15(2):220-6.

Shitano F, Kido A, Kataoka M, Fujimoto K, Kiguchi K, Fushimi Y, Konishi I, Togashi K. MR appearance of normal uterine endometrium considering menstrual cycle: differentiation with benign and malignant endometrial lesions. Acta Radiol. [Epub ahead of print]

〔学会発表〕(計 2 件)

平山貴裕,安彦 郁,吉岡弓子,山口建,近藤英治,馬場長,松村謙臣,小西郁生. 子宮筋腫の術前診断でモルセレーター併用腹腔鏡下核出術後に再発し、悪性の子宮内膜間質・平滑筋混合腫瘍と診断された 1 例.産婦人科の進歩 2015;

67(2):220

日野麻世,吉岡弓子,馬場長,濱西潤三,松村謙臣,安彦 郁,小西郁生. 慢性上行性子宮感染を来した子宮頸部筋腫の 2 例.産婦人科手術.2014;25:199

〔図書〕(計 2 件)

1. 近藤英治,小西郁生.【選択的性ステロイドホルモン受容体修飾薬】選択的プロゲステロン受容体修飾薬と子宮筋腫. HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY. 2016; 23(1):65-70
2. 近藤英治,小西郁生.【子宮筋腫診療のすべて】子宮筋腫の病因と分類.産婦人科の実際.2014;63(10):1307-1316.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~obgy/intro03.html#publist>

6. 研究組織

(1)研究代表者

小西 郁生 (Konishi, Ikuo)

京都大学大学院医学研究科・器官外科学・  
婦人科学産科学・教授

研究者番号： 90192062

(2)研究分担者

馬場 長 ( Baba, Tsukasa )

京都大学大学院医学研究科・器官外科学・  
婦人科学産科学・講師

研究者番号： 60508240

(3)連携研究者