

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10721

研究課題名(和文) 緑茶カテキンのがん細胞殺傷のしくみに基づいた新しい子宮頸部病変治療法の開発

研究課題名(英文) Anti-proliferative effects of the major tea polyphenol, (-)-epigallocatechin gallate and PDE5 inhibitor in cervical carcinoma.

研究代表者

横山 正俊 (Yokoyama, Msatosjhi)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：40230669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、子宮頸癌およびその前癌状態である子宮頸部異形成における緑茶ポリフェノールEGCG(エピガロカテキンガレート)とPDE5阻害剤(vardenafil)を併用による治療の可能性を検討した。今回、HPV 16/18陽性の子宮頸部発癌モデルにおいて、PDE5阻害剤5 $\mu$ Mを併用することでEGCG 10 $\mu$ Mという低濃度でも90%程度の強い増殖抑制効果が認められた。また、子宮頸癌症例においてHPVタイピングにて40歳未満の若年者の子宮頸癌は、91.7%がHPV16あるいはHPV18陽性であることを確認した。この新規治療法はHPV16/18陽性の若年子宮頸癌効果が期待できることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the combined effect of green tea polyphenol EGCG (epigallocatechin gallate) and PDE 5 inhibitor (vardenafil) on cervical carcinoma and cervical dysplasia. In the HPV 16/18 positive cervical carcinogenesis model, combined use of PDE5 inhibitor 5  $\mu$ M and EGCG 10  $\mu$ M showed strong proliferation inhibitory effect of about 90% even at low concentration of EGCG. Our data suggested that the treatments of combined EGCG and PDE 5 inhibitor may be effective in preventing or treating cervical cancer. Furthermore, we reported that more than 90% of cervical cancer patients under the age of 40 were positive for HPV 16/18. It was suggested that this novel therapy could be expected to have HPV 16/18 positive young cervical cancer patients.

研究分野：婦人科悪性腫瘍

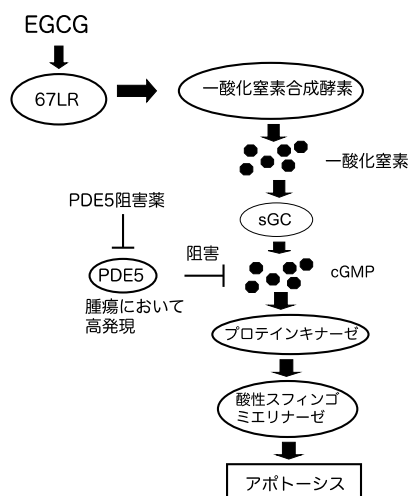
キーワード：子宮頸癌 カテキン PDE5阻害薬

## 1. 研究開始当初の背景

EGCGは、最も抗腫瘍効果が強い緑茶ポリフェノールであり、子宮頸癌細胞株、不死化細胞株においてアポトーシスを誘導し、テロメラーゼ活性を抑制することで、抗腫瘍効果を起こすことを報告してきた。さらにレチノール酸(RA)を併用することでその抗腫瘍効果が増強されることも報告した。その抗腫瘍効果には、67kDa laminin receptor(67LR)という細胞表面蛋白が関連しており、その蛋白発現をRAが誘導することが抗腫瘍増強効果のメカニズムとして考えられた。しかし、*in vitro*で抗腫瘍効果を示すEGCGの濃度は、RAを併用しても実際に緑茶を摂取したときの血中濃度と乖離があり、臨床応用が可能か疑問も残っていた。この67LRとEGCGが結合すると一酸化窒素合成酵素が活性化され、一酸化窒素/cGMP経路を介して結果的にアポトーシスを誘導することが報告された。さらに、腫瘍細胞ではこのcGMPを阻害するホスホジエステラーゼ5(PDE5)が高発現しており、それが結果的に*in vitro*で抗腫瘍効果を示すのに必要なEGCG濃度が高い理由と考えられる。最近EGCGに、PDE5阻害剤(vardenafil)を併用すると、実際の血中濃度に近いEGCG濃度で抗腫瘍効果が認められることが報告された。このPDE5阻害剤は、男性性機能障害治療薬として臨床応用されている。このEGCGとPDE5阻害剤の併用効果を子宮頸癌発癌モデルで検討した。

## 2. 研究の目的

子宮頸癌およびその前癌状態である子宮頸



部異形成におけるEGCGによる治療の可能性、およびそのメカニズムを解明するものである。最近、EGCGが一酸化窒素/cGMP経路を活性化することでがん細胞を特異的に殺傷すること、またその経路を阻害する酵素ホスホジエステラーゼ5(PDE5)をPDE5阻害剤である男性性機能障害治療薬でコントロールすることで、EGCGの抗腫瘍効果が増強できることが報告された。我々は、子宮頸癌の発がんモデルを用いた研究を行い、その発癌予防、癌治療への臨床応用の可能性を探る。さらに臨床検体においてHPVのタイプを調べ、HPV型別の治療の可能性を探った。

## 3. 研究の方法

### (1) 子宮頸部病変におけるPDE5発現

子宮頸癌(扁平上皮癌、腺癌)異形成組織において免疫組織染色を行い、PDE5の発現を確認した。

### (2) 子宮頸部発癌モデルにおけるPDE5阻害剤(vardenafil)の効果の検討

子宮頸部由来不死化細胞株、癌化細胞株、子宮頸癌細胞株においてPDE5阻害剤(vardenafil)が、PDE5発現を抑制するかを検討する。

### (3) EGCGとPDE5阻害剤の併用による子宮頸部発癌モデルにおける細胞増殖抑制効果の検討

子宮頸部由来不死化細胞株、癌化細胞株、子宮頸癌細胞株においてEGCG単独、PDE5阻害剤単独およびその両者を併用して培養を行い、細胞増殖抑制効果を確認した。また、これまで我々が明らかにしてきたEGCG単独およびレチノール酸(RA)併用における効果との比較を行う。

### (4) 子宮頸癌症例におけるHPVタイプング

子宮頸癌症例の病変部からの擦過細胞においてHPVタイプングを行い、年代別、組織型別の特徴を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 子宮頸部病変におけるホスホジエステラーゼ5(PDE5)発現

子宮頸がん組織においてPDE5発現を免疫組織染色で検討した。扁平上皮癌と腺癌において

それぞれ摘出標本のパラフィン封埋切片で抗PDE5抗体を用いて染色を行った。どちらの組織型でも癌組織の核にPDE5が発現していた。

(2)子宮頸部発癌モデルにおけるEGCGとPDE5阻害剤併用による細胞増殖抑制効果

これまでの研究でも腺細胞由来の細胞株は扁平上皮由来の細胞株に比べ、緑茶ポリフェノール(EGCG)の増殖抑制効果が弱かったが、今回veardenafil 5 $\mu$ Mを併用することでEGCG 10 $\mu$ Mという低濃度でも90%程度の強い増殖抑制効果が認められた。扁平上皮由来の細胞株での効果はさらに強力だった。これらの濃度は実際に飲用した場合や内服薬バイアグラを服用した場合の血中濃度に近い。

(3)子宮頸癌由来細胞株における効果

HPV18陽性腺癌由来細胞株であるHeLaにおいてもEGCG10 $\mu$ Mとveardenafil 5 $\mu$ Mの併用でEGCG 10 $\mu$ Mであっても約30%の効果が認められた。

(4)子宮頸癌症例におけるHPVタイピング

子宮頸癌症例においてHPVタイピングを行い、今後EGCGとPDE5阻害剤の併用効果とHPV型との関連を調べるための基礎データとした。40歳未満の若年者の子宮頸癌は、91.7%(11/12)がHPV16あるいはHPV18陽性だったが、年齢とともにその陽性率は低下した。40歳代 62%(13/21)、50歳代38.1%(8/21)、60歳代38%(6/16)、70歳以上15.8%(3/19)であり、全体では46%(41/89)であった。

これらの結果から、この新規治療法はHPV16/18陽性の若年子宮頸癌にも効果が期待できることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

1. 横山正俊: 子宮がん 低年齢化が進む子宮頸がんとパピローマウイルス. 臨牀と研

究 査読無 Vol.93 2016.P809-813.

2. 光 貴子、相原聡美、横山正俊: 特集 家族性腫瘍・感染による腫瘍に対する取り組み パピローマウイルスによる子宮頸がんの予防と治療. 腫瘍内科 査読無 第Vol.16 2015 P267-270.

[学会発表](計 7 件)

1. 横山正俊: 『子宮頸がん検診 HPV検査をどう使うか』. 平成 29 年度山口産科婦人科学会・山口県産婦人科医会アフタヌーンセミナー.(特別講演)2017.6.18
2. 橋口真理子、福田亜紗子、花島克幸、西山 哲、大隈恵美、野口光代、中尾佳史、横山正俊: HPV検査併用子宮頸がん検診について 佐賀市の5年間の結果、今後の課題. 第74回九州連合産科婦人科学会、ワークショップ2017.6.4
3. 橋口真理子、福田亜紗子、花島克幸、西山 哲、大隈恵美、野口光代、内山倫子、中尾佳史、横山正俊: 佐賀市におけるHPV検査併用子宮頸がん検診について. 第58回日本臨床細胞学会総会(春期大会). 2017.5.27
4. 横山正俊: 子宮頸がん検診 HPV検査を今後どう使うか 第4回宮崎県臨床細胞学会(特別講演) 2017.3.26
5. 横山正俊: 子宮頸がん検診の今後 HPV検査をどう使うか. 第43回日本産婦人科医会学術集会.(特別講演)2016.11.13
6. 横山正俊: 子宮頸がん検診は HPV検査併用の時代へ~佐賀市におけるHPV併用検診への取り組み~.(特別講演)八代市産婦人科医会講演会 2016.1.29
7. 横山正俊、橋口真理子、本田敦子、野口光代、西山 哲、内山倫子、中尾佳史: シンポジウム HPV検査時代の細胞診検査の果たす役割 佐賀市におけるHPV検査併用検診の現状と問題点. 第54回日本臨床細胞学会秋期大会. 2015.11.21

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 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 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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

横山 正俊 (Masatoshi Yokoyama)  
佐賀大学・医学部・産科婦人科・教授  
研究者番号：40230669

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

中尾 佳史 (Yoshifumi Nakao)  
佐賀大学・医学部・産科婦人科・準教授  
研究者番号：303361119

橋口 真理子 (Mariko Hashiguchi)  
佐賀大学・医学部・産科婦人科・助教  
研究者番号：10535751

### (4) 研究協力者

( )