

令和 4 年 10 月 27 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10735

研究課題名(和文) 網羅的な蛋白質解析による子宮内膜腺癌バイオマーカーの同定及び治療標的候補の検索

研究課題名(英文) Identification of endometrial adenocarcinoma biomarkers and therapeutic target candidates by proteomic analysis

研究代表者

彭 為霞 (Peng, Wei-Xia)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：00535700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：子宮類内膜癌(endometrioid carcinoma; EC)は婦人科癌では最も多い。我々は網羅的な蛋白質解析および免疫組織化学法により、ECの予後予測バイオマーカーについて検討した。ECの手術材料(G1～G3)を用いて、プロテオーム解析を行った。予後不良とされているG3 ECに特異的に高発現を示したFilaminAを同定した。次に、免疫組織化学法を用い、FilaminAの発現を確認したところ、Filamin Aは、G3 ECにおいて明らかな高発現を認めた($p<0.05$)。Filamin Aは、ECの脱分化に関与する可能性が推測でき、予後不良のバイオマーカーとして有用の可能性が有る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討では、Filamin Aの発現は子宮類内膜癌の脱分化に関与する可能性が示唆され、予後不良のバイオマーカーとして有用の可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：To identify potential prognostic biomarkers in endometrioid carcinoma (EC), we performed proteomic analysis and immunohistochemistry (IHC). Firstly, we revealed the total protein expression in 3 grades ECs respectively, and compared the protein expression profiles between grades. Then we validated the protein expression using IHC and compared the protein expression patterns with clinical factors. Compare to G1 EC, differentially expressed proteins in G3 was 56 types. Among them, we focused the Filamin A. In IHC study, G3 ECs showed significantly higher expression of Filamin A than G1 and G2 ECs. Furthermore, strong expression of Filamin A tended to be associated with cancer frequent recurrence and lymphovascular invasion. The current analysis revealed the significant association of high expression Filamin A and unfavorable prognostic factors of ECs, suggesting that Filamin A may play a critical role in EC invasiveness and prognosis.

研究分野：腫瘍

キーワード：子宮内膜癌

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜腺癌は婦人科癌では最も多い。その発症は40歳代後半から急増し、50歳代から60歳代にピークとなる。子宮内膜腺癌の8割は子宮類内膜癌(endometrioid carcinoma; EC)で、その病理組織学分化度により、G1(高分化)、G2(中分化)及びG3(低分化)に細分類されている。最近の研究では、同じ分化度のECの中でも、異なるゲノム異常蓄積過程と悪性度を有することが明らかとなった(The Cancer Genome Atlas Research Network, Nature:2013)。また、病理組織像で予後良好と予想される症例の中、2割以上の症例は急激な進展を示し、5年生存率は僅か5%~10%と極めて不良であることが報告された。ECの悪性度の評価及び予後予測に有用なバイオマーカーの確立と新規治療法の開発が切望されている。

2. 研究の目的

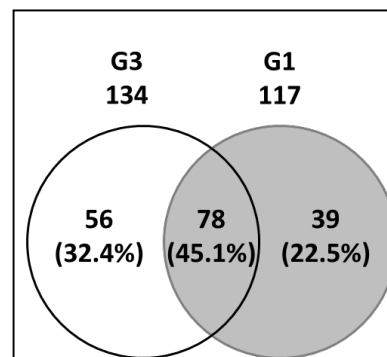
本研究では、子宮類内膜癌における蛋白質発現の網羅的解析および免疫組織化学法から、子宮類内膜癌の予後予測に有用なバイオマーカーを同定し、新たな治療標的としての可能性を検討する。

3. 研究の方法

手術で切除されたEC組織および市販の子宮類内膜癌のtissue arrayを用いて検討した。プロテオーム解析に関しては、レーザーマイクロダイセクション(LMD)法で癌部と非癌部の組織をそれぞれ採取する。次に、nanoLC/QqTOF MS/MSシステムによるショットガンプロテオーム解析から網羅的に蛋白質解析を行った。これによって、ECにおける特異的な発現を示す分子群を同定した。また、予後良好とされている高分化(G1)ECと予後不良とされている低分化(G3)ECにおける蛋白質発現パターンを比較し、G3 ECに高発現した蛋白質の中、癌細胞の増殖や進展に関与するとされているFilamin-Aを注目した。Filamin-Aの発現を免疫組織化学法で確認し、さらに、Filamin-A高発現群と低発現群における患者年齢、腫瘍の組織学分化度、脈管侵襲の有無、再発の有無、病期を比較した。

4. 研究成果

G3 EC および G1 EC においては、それぞれ 134 種類および 117 種類の蛋白質が同定された。そのうち、両組織型に共通する蛋白は 78 種類で、G3 EC に特異的に高発現を示す蛋白は 56 種類；G1 EC に特異的に高発現を示す蛋白は 39 種類であった(右図)。



G3 EC に高発現した蛋白質の中、癌細胞の増殖や進展に関与するとされている Filamin-A を注目し、手術材料の組織検体および Tissue microarray を用い、腫瘍組織における Filamin-A 蛋白質の発現についてさらに確認した。その結果、それぞれ 9%の G1 EEC、37%の G2 EEC、69%の G3 EEC において、Filamin-A の発現が確認できた。Filamin-A 高発現群と低発現群にお

ける患者の年齢、腫瘍の組織学分化度、脈管侵襲の有無、再発の有無、病期について比較した結果、Filamin-A 発現の高低は、患者年齢、病期分類と有意な相関は見られなかった。しかし、Filamin-A の過剰発現は、G3 EC において明らかな高発現を認めた ($p < 0.05$) (下図 1)。同じ症例においても、分化度の高い腫瘍成分と比べ、分化度の低い腫瘍成分において、Filamin-A の強発現傾向が見られた(下図 2)。また、明らかな統計学的な相関性は見られなかったものの、癌の再発およびリンパ管侵襲を示す症例において、Filamin-A の高発現傾向が確認できた。

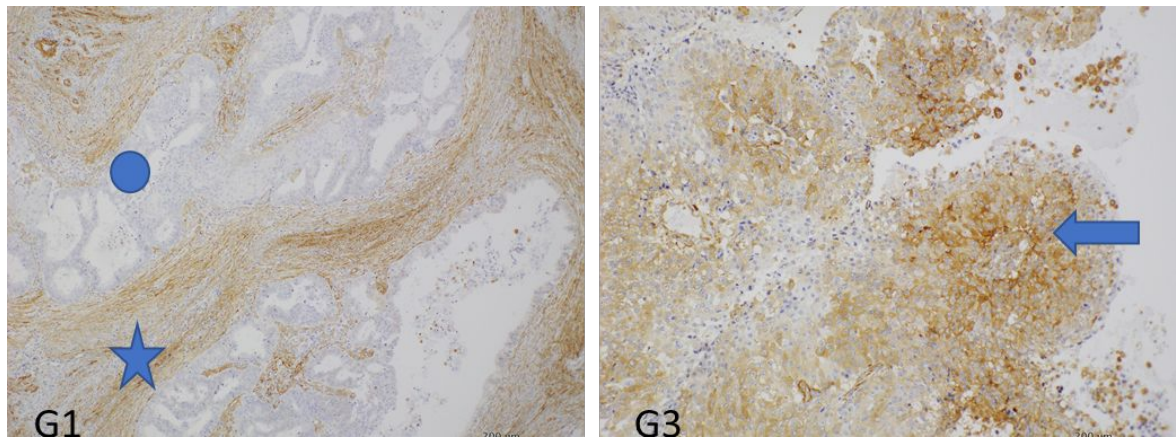


図 1

G1：子宮固有筋層の平滑筋()は Filamin-A 陽性を示しているが、G1 EC()の部分 Filamin-A 陰性を示している。

G3：G3 EC の症例において、Filamin-A はびまん性強陽性を認める。

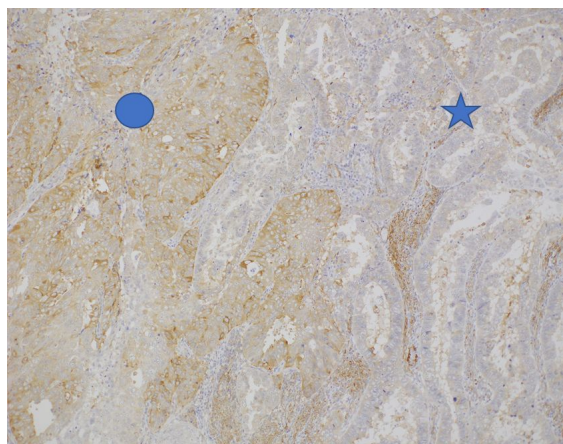


図 2

分化度の高い部分()と比べ、分化度の低い部分()において、Filamin-A の強発現傾向が見られる。

今回の網羅的な蛋白質解析および免疫組織化学の検討で、予後不良とされている低分化(G3)EC における特異的に高発現を示す Filamin-A を同定できた。Filamin-A は、EC の癌進展や予後との関連性についてはほとんど検討されていないが、ほかの癌腫において、癌の進展に関与することが報告されている。また、明らかな有意差は見られなかったが、癌の再発およびリンパ管侵襲を示す症例では、Filamin-A 高発現の傾向が見られた。

以上より、Filamin-A は、EC の脱分化や癌の進展、予後に関与する可能性が高いと推測でき、予後不良の症例に対して、新たな治療標的の可能性を示唆した。

5 . 主な発表論文等

1. **Peng WX**, Wada R, Kure S, Fukunaga M, Naito Z.
Superficial Myofibroblastoma in the Vulva Mimicking Aggressive Angiomyxoma: A Case Report and Review of the Literature. (in press).
2. Kondo R, Ishino K, Wada R, Takata H, **Peng WX**, Kudo M, Kure S, Kaneya Y, Taniai N, Yoshida H, Naito Z.
Downregulation of protein disulfide-isomerase A3 expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis through STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma.
Int J Oncol. 2019 ;54(4):1409-1421. doi: 10.3892/ijo.2019.4710.
3. Ishino K, Kudo M, **Peng WX**, Kure S, Kawahara K, Teduka K, Kawamoto Y, Kitamura T, Fujii T, Yamamoto T, Wada R, Naito Z.
2-Deoxy-d-glucose increases GFAT1 phosphorylation resulting in endoplasmic reticulum-related apoptosis via disruption of protein N-glycosylation in pancreatic cancer cells.
Biochem Biophys Res Commun. 2018 .27;501(3):668-673. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.041.
4. Matsumoto NM, **Peng WX**, Aoki M, Akaishi S, Ohashi R, Ogawa R, Naito Z.
Histological analysis of hyalinised keloidal collagen formation in earlobe keloids over time: collagen hyalinisation starts in the perivascular area.
Int Wound J. 2017 ;14(6):1088-1093. doi: 10.1111/iwj.12763.
5. Takata H, Kudo M, Yamamoto T, Ueda J, Ishino K, **Peng WX**, Wada R, Taniai N, Yoshida H, Uchida E, Naito Z.
Increased expression of PDIA3 and its association with cancer cell proliferation and poor prognosis in hepatocellular carcinoma.
Oncol Lett. 2016 ;12(6):4896-4904. doi: 10.3892/ol.2016.5304.
6. Matsumoto NM, Aoki M, Nakao J, **Peng WX**, Takami Y, Umezawa H, Akaishi S, Ohashi R, Naito Z, Ogawa R.
Experimental Rat Skin Flap Model That Distinguishes between Venous Congestion and Arterial Ischemia: The Reverse U-Shaped Bipedicled Superficial Inferior Epigastric Artery and Venous System Flap.
Plast Reconstr Surg. 2017;139(1):79e-84e. doi: 10.1097/PRS.0000000000002900.
7. Yamamoto T, Kudo M, **Peng WX**, Takata H, Takakura H, Teduka K, Fujii T, Mitamura K, Taga A, Uchida E, Naito Z.
Identification of aldolase A as a potential diagnostic biomarker for colorectal cancer based on proteomic analysis using formalin-fixed paraffin-embedded tissue.
Tumour Biol. 2016 ;37(10):13595-13606.
8. Wada R, Arai H, Kure S, **Peng WX**, Naito Z.
"Wild type" GIST: Clinicopathological features and clinical practice.
Pathol Int. 2016;66(8):431-7. doi: 10.1111/pin.12431. Epub 2016 Jul 18. Review.
9. Matsumoto NM, Umezawa H, Ohashi R, **Peng WX**, Naito Z, Ogawa R.
Surgical Treatment of Rare Sclerosing Polycystic Adenosis of the Deep Parotid Gland.
Plast Reconstr Surg Glob Open. 2016.17;4(3):e645. doi: 10.1097/GOX.0000000000000614.
10. Kanzaki A, Kudo M, Ansai S, **Peng WX**, Ishino K, Yamamoto T, Wada R, Fujii T, Teduka K, Kawahara K, Kawamoto Y, Kitamura T, Kawana S, Saeki H, Naito Z.
Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein-3 as a marker for distinguishing between cutaneous squamous cell carcinoma and keratoacanthoma.
Int J Oncol. 2016;48(3):1007-15. doi: 10.3892/ijo.2016.3323.

11. **Peng WX**, Kure S, Ishino K, Kurose K, Yoneyama K, Wada R, Naito Z.
P16-positive continuous minimal deviation adenocarcinoma and gastric type
adenocarcinoma in a patient with Peutz-Jeghers syndrome.
Int J Clin Exp Pathol. 2015. 1;8(5):5877-82.

12. Takaya A, **Peng WX**, Ishino K, Kudo M, Yamamoto T, Wada R, Takeshita T, Naito Z.
Cystatin B as a potential diagnostic biomarker in ovarian clear cell carcinoma.
Int J Oncol. 2015;46(4):1573-81. doi: 10.3892/ijo.2015.2858. Epub 2015 Jan 28.

〔図書〕(計 2 件)

1. カラーイラストで学ぶ集中講義 病理学 改定第二版
メジカルビュー社(婦人科、泌尿器 p298-317)
2. 細胞診を学ぶ人のために 第六版 医学書院(染色法 P60-66)

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：内藤 善哉

ローマ字氏名： Naito Zenya

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：大学院医学研究科

職名：大学院教授

研究者番号(8桁)：20237184

(2)研究分担者

研究分担者氏名：和田 龍一

ローマ字氏名： Wada Ryuichi

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：20260408

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。