

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19607

研究課題名（和文）新たな子宮肉腫マウスモデルを用いた肉腫化抑制因子の同定と新規分子標的治療への応用

研究課題名（英文）Identify suppressors of sarcoma initiation with newly established uterine sarcoma mouse model to develop novel molecular targeted therapy

研究代表者

大黒 多希子 (Daikoku, Takiko)

金沢大学・学際科学実験センター・教授

研究者番号：30767249

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究従事者らは、これまでに子宮特異的にPten遺伝子を欠損させたPten-PRcreマウスにプロゲステロンを連続投与することによって、子宮間質肉腫マウスモデルを新たに作出することに成功した。本研究では、このマウスモデルを使用し、子宮肉腫の発生は上皮の作用によって左右されることを実験的に明らかにした。さらに、肉腫発生に関わるいくつかの因子を明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られた子宮間質肉腫発生に上皮細胞の作用が影響するという結果は新しい知見であり、学術的意義がある。また、本研究で新たに発見された子宮間質肉腫発生に関わると考えられる因子は、子宮肉腫の新たな治療ターゲットとなり、新規治療薬の開発につながると考えられ、社会的意義がある。

研究成果の概要（英文）：We previously established a novel uterine sarcoma mouse model by long-term treatment of progesterone to uterine specific Pten null mice. In this research, we found that normal Pten in uterine epithelium is essential to repress initiation of uterine stromal sarcoma in mouse. We also found some candidates which plays important role for initiation of uterine stromal sarcoma.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮肉腫 マウスモデル

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

肉腫は発症頻度が低いことが知られているが、特に婦人科領域の肉腫は非常に珍しい疾患である。国立がん研究センターHPによると、がん罹患者数は日本全国で年間約 90 万人であるのに対し肉腫の罹患者数は年間約 9,000 人であり、そのうち子宮肉腫は年間約 800 人に発症すると推測されている。この稀少性が障害となり、子宮肉腫の発生機序や原因遺伝子等が明らかとなっていない。

一方我々は、子宮特異的（子宮上皮・間質・筋層）に **Pten** 遺伝子（Phosphatase and Tensin homolog）を欠損させたマウス（**Pten-PRcre**）において、卵巣を除去しプロゲステロン（**P4**）を連続投与することによって、子宮肉腫の一種である内膜間質肉腫が発症することを見出した。一般にマウス子宮内膜間質は妊娠時のみ脱落膜化するが、子宮特異的に **Pten** を欠損した **Pten-PRcre** の間質では胚の非存在下でもプロゲステロンの単独作用により脱落膜化しさらに悪性化したことから、野生型マウスでは、脱落膜化間質細胞の悪性化を抑制する因子が存在すると推測した。

2. 研究の目的

本研究では、野生型および子宮部位特異的に **Pten** 遺伝子を欠損したマウスで発現するタンパク質や遺伝子を比較し、肉腫発生を制御する分子、特に脱落膜化間質細胞の悪性化抑制因子の探索とその分子機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

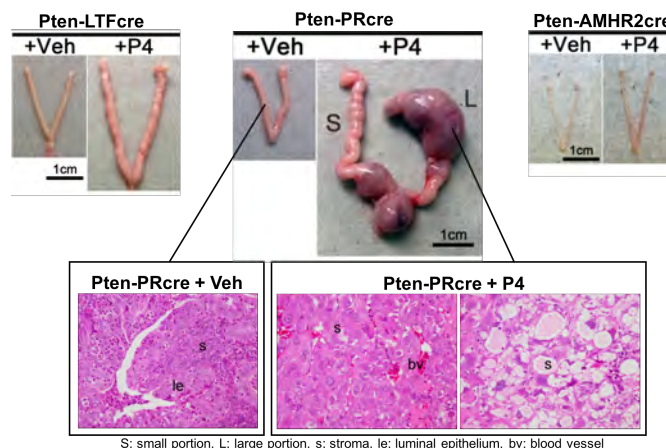
上皮細胞内に肉腫化抑制因子が存在するかどうかを探索するために、**Pten** 遺伝子を子宮特異的に欠損した **Pten-PRcre** だけでなく、子宮上皮特異的に欠損した **Pten-LTFcre**、子宮間質特異的に欠損した **Pten-AMHR2cre** マウスの卵巣を除去してプロゲステロン（**P4**）を連続投与し、間質細胞が、がん化するかどうかについて観察する。がん化が抑制された場合、**Pten** 欠損した子宮上皮と野生型の子宮上皮の遺伝子発現をマイクロアレイによって比較する。

脱落膜化間質細胞内に存在する可能性のある肉腫化に関わる分子を探索するために、**Pten** 遺伝子を子宮特異的に欠損した **Pten-PRcre** にプロゲステロンを投与して誘導した子宮間質肉腫と、脱落膜化間質細胞の数が最大限となる正常マウスの妊娠 8 日目の子宮で発現するタンパク質や遺伝子を免疫染色やマイクロアレイで比較する。

4. 研究成果

(1) 子宮間質のがん化はその周辺組織である上皮によって左右される。

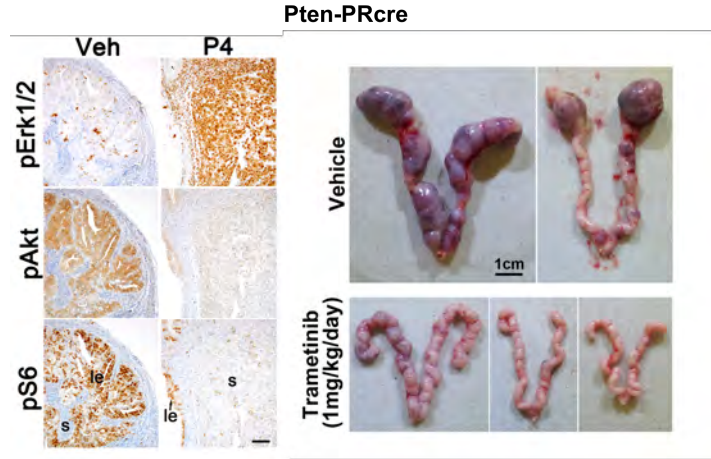
Pten 遺伝子を子宮特異的に欠損した **Pten-PRcre** では、**P4** 投与 3 週間から子宮間質のがん化が観察され、投与 1 ヶ月で 100% のマウスに子宮肉腫が発症した。一方で、子宮上皮特異的に欠損した **Pten-LTFcre**、子宮間質特異的に欠損した **Pten-AMHR2cre** マウスに同様の操作を行っても、子宮間質の組織学的編はは観察されなかった（下図）。したがって、上皮と間質両者の **Pten** 欠損が間質のがん化に必要であり、間質のがん化を周辺組織が制御していると考えられる。現在、**Pten** 欠損した子宮上皮と野生型の子宮上皮の遺伝子発現の比較を行っている。



S; small portion, L; large portion, s; stroma, le; luminal epithelium, bv; blood vessel

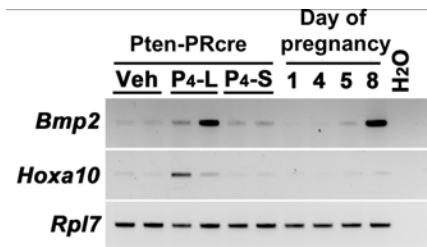
(2) 子宮間質のがん化は MAPK 経路が重要な役割を行っている。

Pten 欠損は子宮上皮では一般的によく知られている PI3K/Akt/S6 シグナルを活性化する (pAkt, pS6)。しかしながら、*Pten* 遺伝子が欠損した子宮間質では P4 投与時のみ MAPK シグナルを活性化した (pERK1/2) (下図)。正常マウスの妊娠 8 日目の子宮の脱落膜化細胞でも pERK1/2 は存在するが、その発現量は子宮肉腫よりも弱く、発現範囲は antimesometrial の一部に局在しているのみであった。さらに、MAPK シグナル伝達経路阻害剤である trametinib は間質のがん化を抑制したため、子宮肉腫の発症に *Pten* KO+P4/MAPK シグナル伝達経路が重要な役割をしていることが明らかとなった (下図)。



(3) 子宮間質がん細胞は脱落膜化のマーカー遺伝子の発現が促進する。

Pten 欠損および P4 投与によってがん化した間質細胞は、脱落膜細胞と形態が似ているだけでなく、脱落化マーカー遺伝子の発現が促進した (下図)。



(4) 子宮間質がん促進因子と抑制因子候補は脱落膜化細胞に発現している可能性がある。

Pten-PRcre+P4 および *Pten-PRcre*+Veh の脱落膜化細胞と間質を単離し、マイクロアレイによって遺伝子発現の比較を行った。その結果、*Fgf12*、*Fgf15*、*Fgf18* が、がん細胞にのみ発現している遺伝子として見出され、これらの因子ががん化促進している可能性が示唆された。一方で、間質細胞にのみ発現しているものとして *Timp3* や *Ptgs 1*、*Kdr* が見出され、これらの因子ががん化抑制している可能性が示唆された。現在、新たに樹立した *Pten-PRcre*+P4 の子宮間質がん細胞株を用いて、それぞれの遺伝子の機能の解析を行っている。

以上で示したように、本研究では、我々が新たに確立した子宮間質肉腫マウスモデルを用いて、その発生に関わる候補因子を明らかにするとともに、その分子機構の一部を明らかとした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 寺川純平、井之上幸範、松岡歩、水本泰成、藤原浩、大黒多希子
2. 発表標題 マウスモデルを用いた子宮がん発生を制御する分子機構の解明
3. 学会等名 第55回北陸生殖医学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	藤原 浩 (Fujiwara Hiroshi) (30252456)	金沢大学・医学系・教授 (13301)	
研究分担者	中村 充宏 (Nakamura Mitsuhiro) (50377397)	金沢大学・医学系・講師 (13301)	