

平成 21 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591948

研究課題名 (和文) 選択的エストロゲン受容体調節薬の子宮内膜間質および平滑筋における造腫瘍能の解析

研究課題名 (英文) Analysis of the effect of selective estrogen receptor modulators on tumorigenesis of endometrial stromal and smooth muscle cells

研究代表者 蜂須賀 徹 (HACHISUGA TORU)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号：70180891

研究成果の概要：

選択的エストロゲン受容体調節薬 (SERM) によって調節されている蛋白質を検討していく中で HMG (high mobility group) 蛋白質に注目した。当大学倫理委員会の承認を受け HMG 蛋白質である Brg1-associated factor 57 (BAF57) と mitochondrial transcription factor A (mtTFA) についてその発現が子宮内膜癌の有意な予後因子であることがわかった。今後は子宮内膜間質系腫瘍、平滑筋肉腫に対する HMG 蛋白質の解析に研究を進展して行く考えである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科

キーワード：SERM、子宮内膜、HMG 蛋白質、BAF57、mtTFA

1. 研究開始当初の背景

タモキシフェン (TAM) は非ステロイド系の抗エストロゲン剤で選択的エストロゲン受容体調節薬に分類されている。乳癌術後の補助療法として主に汎用されてきたが、1990年代を中心に TAM に関連した子宮体癌発生に対する大規模無作為臨床試験が発表されその多くが TAM 使用者に有意に多く子宮体癌が発生すること報告した。さらに NSABP などから子宮癌肉腫を含めた子宮肉腫の症例が非 TAM 使用例に比して TAM 使用例に有意に多いことが報告された。またイギリスからの報告でも子宮癌肉腫の相対危険率は 13.5 と高いことが報告されている。これらを含めた

最近の TAM に関する疫学的研究の多くが TAM 使用者に子宮癌肉腫や肉腫の発生が有意に高くなることを報告している。

通常の子宮内膜癌については遺伝子レベルでの報告が数多くあり、発癌過程のモデルもいくつか提案されているが、子宮癌肉腫や子宮肉腫に関してはその発生数の少なさから十分に発癌過程が解析されているとは言えない。そのため TAM に関連した間質細胞、平滑筋細胞の変化は発癌のモデルとして注目される。

2. 研究の目的

TAM が関与する蛋白質変化や遺伝子変化について、子宮内膜間質や子宮筋に注目した研究は今までにはなされていない。human level での子宮内膜間質細胞や平滑筋細胞における TAM が関与する遺伝子変化また蛋白質の変化を検索することにより、いまだに十分解明されていない子宮癌肉腫や肉腫の蛋白質レベルまたは遺伝子レベルでの発癌過程を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) TAM に関連した子宮内膜の細胞診標本を再検討し、細胞異型のある標本を抽出した。さらにその異型細胞が上皮性か間質性かの検討を行った。

(2) HMG(high mobility group)蛋白質のなかでHMGB1, HMGB2, HMGB3 また特にSWI/SNF クロマチン再構成複合体の主要な構成単位の一つであり、estrogen receptor (ER)を介し転写を調節することが報告されているBrg1-associated factor 57(BAF57)、同様にHMG蛋白質であるmitochondrial transcription factor A (mtTFA)について正常子宮内膜、TAM関連内膜、子宮内膜増殖症、子宮内膜癌についてパラフィン切片から免疫組織学的に検討した。BAF57 については凍結標本から蛋白質の解析を行った。

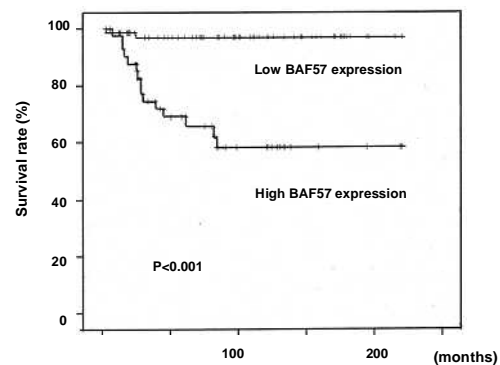
(3) TAM に関連していないが子宮内膜ポリープから発生していると病理組織学的に診断された症例について、P53, Bcl-2, Ki-67, エストロゲン受容体などを免疫組織学的に検討した。

4. 研究成果

(1) 選択的エストロゲン受容体調節薬の子宮内膜間質および平滑筋における造腫瘍能の解析のために、子宮内膜細胞診標本の中でクラス III 以上の細胞形態異常を示した 23 例についてその細胞像を再検討した、その結果悪性を示唆する細胞所見は細胞の異常な重積性であることを Acta Cytologica に報告した。

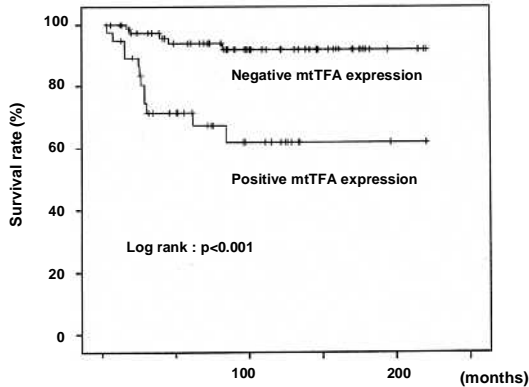
(2) SWI/SNF クロマチン再構成複合体の主要な構成単位の一つであり、estrogen receptor (ER)を介し転写を調節することが報告されている Brg1-associated factor 57(BAF57)の蛋白質発現について検討を進めた。当大学倫理委員会の承認を受け 2006 年 10 月より 2007 年 12 月までに、増殖初期 5 例、増殖中期 7 例、増殖後期 3 例、分泌期初期から中期 6 例、分泌後期 7 例、Arias-Stella 反

応 5 例、ピル内服内膜 3 例、子宮内膜癌 15 例を免疫組織学的に検討した。BAF57 は腺上皮では、核より細胞質に強く発現を認めた。月経周期では増殖初期では発現は弱く、増殖後期に向けてその発現は上昇し、分泌後期で強い発現を認めた。間質細胞は増殖期初期より、核に染色され、増殖中期から分泌期にかけてその発現が増強した。分泌後期で偽脱落膜反応を起こしている部分では、核と共に細胞質にも染色された。Arias-Stella 反応腺上皮は細胞質に強染し、脱落膜では核と細胞質共に強染した。子宮内膜癌では核、細胞質とも発現を認めた。この結果は第 44 回日本婦人科腫瘍学会で発表した。さらに子宮内膜癌 111 例について、患者予後との関係を検討した。BAF57 が核に強く染色される例が 31 例であり、染色されない例より有意に予後不良であった。さらに予後と関係している臨床病理学的因子と多変量解析を行うと、BAF57 発現が独立した予後因子であることがわかった。



(3) 同様に HMG蛋白質である mitochondrial transcription factor A (mtTFA)についても検討を加えた。mtTFA はミトコンドリアの DNA の転写活性に関与していると考えられている。111 例の子宮内膜癌で免疫組織学的に検討を行ったところ mtTFA は細胞質に染色され mtTFA 陽性例は 38 例あり、陰性例に対して有意に予後不良であった。しかしその他の臨床

病理学的予後因子との多変量解析では独立した予後因子とはならなかった。このことは mtTFA は腫瘍の進展に関連していることを推測させる。また子宮内膜癌 III 期と IV 期 25 例で tunnel 法によるアポトーシスとの関係を検討したが有意な関係は指摘できなかった。



(4) 間質系腫瘍との関係が指摘されている HMGB1, HMGB2, HMGB3 についても同様に免疫染色を行い現在結果を解析中である。

(5) 111 例の子宮内膜癌症例に対して、p53 染色、ki-67, エストロゲン受容体を免疫組織学的に検討した。その中で p53 が 50% 以上染色される症例は、予後不良であることがわかった。漿液性腺癌の中では、子宮内膜ポリープをその発生母地としている症例があり、これらの症例の検討を進めることが、間質細胞の腫瘍化の機序を解明する可能性がある。

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 4 件)

Hachisuga T, Emoto M, Kawarabayashi T, Kamihara Y, Nabeshima K. Endometrial cytologic findings in Tamoxifen-treated breast cancer patients, Acta Cytologica 2009, (in press) 査読有

Yotsumoto F, Yagi H, Suzuki S, Oki E, Tsujioka H, Hachisuga T, Sonoda K, Kawarabayashi T, Mekata E, Miyamoto S. Validation of HB-EGF and amphiregulin as targets for human cancer therapy. BBRC, 365, 555-561, 2008, 査読有

Horita H, Kuroda E, Hachisuga T, Kashimura M, Yamashita U. Induction of prostaglandin E2 production by leukemia inhibitory factor promotes migration of first trimester extravillous trophoblast cell lines, HTR-8/SVneo, Hum Reprod, 22, 1801-1809, 2007, 査読有

Tamura-Sadamori R, Emoto M, Naganuma Y, Hachisuga T, Kawarabayashi T. The sonohysterographic difference in submucosal uterine fibroids and endometrial polyps treated by hysteroscopic surgery, J Ultrasound Med, 26, 941-946, 2007, 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

Hachisuga T, Fukuoka M, Miyahara D, Horiuchi S, Tsujioka H, Emoto M, Kawarabayashi T, Conservative treatment of atypical hyperplasia and well differentiated adenocarcinoma of the endometrium in young women with the immunohistochemical study, 12th Biennial Meeting International Gynecologic Cancer Society. Bangkok, Thailand, October 26, 2008

蜂須賀 徹. 子宮体がん組織発生に関連した話題。第 109 回鹿児島県産婦人科医会特別講演。鹿児島 10 月 11 日 2008 年

栗田 智子、卜部 理恵、川越 俊典、土岐 尚之、松浦 祐介、蜂須賀 徹、橋本 洋、河野 公俊。卵巣腫瘍における BAF57 発現の検討。第 44 回日本婦人科腫瘍学会 名古屋 7 月 18 日 2008 年

鏡 誠治、北島 光泰、川越 俊典、土岐 尚之、松浦 祐介、蜂須賀 徹、橋本 洋、河野 公俊。子宮内膜における BAF-57 発現の検討。第 44 回日本婦人科腫瘍学会 名古屋 7 月 18 日 2008 年

蜂須賀 徹. 子宮体がんとその関連病変について。福岡県産婦人科医会学術講演会 福岡 7 月 10 日 2008 年

鏡 誠治、北島 光泰、川越 俊典、土岐 尚之、松浦 祐介、蜂須賀 徹、橋本 洋、

河野 公俊。子宮内膜癌における HMGB1(high mobility group box-1)蛋白発現についての検討。第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会 横浜 4月13日、2008年

蜂須賀 徹。SERM に関連した子宮内膜癌発症の研究。11th BREAST CANCER UO-TO-DATE Meeting 神戸 2月9日 2008年

〔図書〕(計 1 件)

蜂須賀 徹、産婦人科 専門医に聞く最新の臨床。タモキシフェン(TAM)誘発子宮体癌、2008年, p297-p300、中外医学社

〔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

蜂須賀 徹 (HACHISUGA TORU)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号：70180891

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし