

機関番号 : 13601

研究種目 : 基盤研究 (C)

研究期間 : 2008~ 2010

課題番号 : 20591941

研究課題名 (和文) 卵巣癌における癌抑制遺伝子 INT6, VHL および HIF 発現とその機能解析
研究課題名 (英文) The expression of mammalian tumor suppressor, Int6 and hypoxia inducible factor (HIF) - 2 α in ovarian carcinomas

研究代表者 大平哲史 (OHIRA SATOSHI)

信州大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 : 90397315

研究成果の概要 (和文) :

卵巣明細胞癌と形態学的に類似した腎臓明細胞癌の発生には癌抑制遺伝子である von Hippel-Lindau (VHL) 遺伝子の異常が深く関与していることが報告されている。VHL 蛋白は酸素存在下ではユビキチンリガーゼとして機能し、転写因子である HIF (hypoxia inducible factor) の分解に関与している。最近、HIF-2 α は Int6/eIF3e/p48 によって調節されていることが報告されたことから、卵巣癌における Int6, VHL および HIF- α サブユニット発現を検討した。その結果、HIF-2 α 発現は良性および境界悪性腫瘍に比べ、癌で発現が増強した。さらに、卵巣癌において HIF-2 α 発現は組織分化度、病期と相関して増強した ($p=0.034$, $p=0.018$)。卵巣癌の浸潤部では HIF-2 α 発現陽性部位は Int6 発現陰性であった。患者生存期間の比較では、HIF-2 α 発現陽性および Int6 陰性症例は HIF-2 α 発現陽性で Int6 陽性の症例と比較して有意に予後不良であった ($p=0.003$)。Int6 発現の有無により HIF-2 α 発現陽性症例の中でも予後が異なることから、Int6 の発現低下および、HIF-2 発現亢進が卵巣癌の悪性度に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文) : In order to elucidate the possible involvement of Int6 in ovarian carcinomas, we examined the immunohistochemical expression of Int6, HIF-2 α and von Hippel-Lindau (VHL) in ovarian carcinomas, and analyzed the prognostic differences according to Int6, HIF-2 α and VHL expression in ovarian carcinoma patients. We examined the immunohistochemical expression of Int6, HIF-2 α , and VHL in 70 cases of ovarian carcinomas. In addition, we analyzed the correlation and prognostic differences according to the expression of Int6, HIF-2 α and VHL. We found that Int6 and VHL protein were expressed in the cytoplasm of tumor cells. Although the HIF-2 α staining was mainly observed in the cytoplasm, nuclear staining was sporadically observed in ovarian carcinoma cells. Cytoplasmic expression of HIF-2 α was significantly higher in tumors of FIGO stage III+IV than those of stage I+II. In advanced cases, HIF-2 α expression showed inverse correlation with the expression of Int6. There was no significant correlation between HIF-2 α and VHL expression. The log-rank test showed that the cytoplasmic positive HIF-2 α immunostaining in tumor cells is associated with the poor prognosis of ovarian carcinoma patients ($p = 0.005$). Interestingly, the prognosis was significantly poorer in those with positive HIF-2 α and negative Int6 immunostaining. These results show that the increased expression of HIF-2 α subunit and decreased expression of Int6 may involved in the progression of ovarian carcinoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：産婦人科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：卵巣癌、Int6、HIF、VHL

1. 研究開始当初の背景

Int6は翻訳調節因子eIF3e/p48と同一の因子であり、これまでにマウス乳ガン発症ウイルスMMTVの標的遺伝子産物として、発癌や血管新生に重要な役割を果たしていることが報告されている。最近、Int6はHIF-2 α に直接結合し、低酸素やpVHL/proline hydroxylase非依存的にproteasomeを介して特異的にHIF2 α を分解することが判明した。さらに、内因性Int6の発現低下により、酸素濃度とは無関係にHIF-2が発現、活性化され、HIF-2依存的な血管新生因子群が誘導された。これまで、Int6とHIF-2 α の関係において臨床検体をもとにした検討はなされていない。

2. 研究の目的

そこで、今回、上皮性卵巣腫瘍において、Int6およびHIF2 α 蛋白発現を免疫組織学的に検討し、卵巣腫瘍でのInt6およびHIF2 α 発現の意義を検討した。

3. 研究の方法

患者の同意を得て採取した上皮性卵巣腫瘍103例(良性18例、境界悪性15例、悪性70例)について抗Int6抗体、抗HIF-2 α 抗体を用いて免疫染色を施行した。Int6およびHIF-2 α 蛋白発現と臨床病理学的因子との相

関について検討を行った。

4. 研究成果

Int6発現は細胞質に観察され、陽性率は良性53%(漿液性5/7、粘液性1/11)、境界悪性66.7%(漿液性5/5、粘液性5/10)、悪性53%(漿液性14/26、粘液性2/7、類内膜8/17、明細胞11/20)であった。HIF-2 α 発現は細胞質および核に観察され、細胞質の陽性率は良性0%(漿液性0/7、粘液性0/11)、境界悪性24%(漿液性2/5、粘液性2/10)、悪性76%(漿液性24/26、粘液性4/7、類内膜12/17、明細胞13/20)であった。HIF-2 α 細胞質発現陽性症例の卵巣癌症例は陰性の症例と比較して有意に予後不良であった(p=0.005)。卵巣癌のHIF-2 α 細胞質発現陽性症例について生存分析を行ったところ、Int6陰性症例は陽性症例と比較して有意に予後不良であった(p=0.04)。

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20件)

- Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Kanai Y, Shiozawa T, Tonegawa S, Konishi I. Molecular Approach to Uterine Leiomyosarcoma:

- LMP2-Deficient Mice as an Animal Model of Spontaneous Uterine Leiomyosarcoma. *Sarcoma*. 2011;2011:476498. (査読あり)
2. Takano M, Kikuchi Y, Kudoh K, Goto T, Furuya K, Kikuchi R, Kita T, Fujiwara K, Shiozawa T, Aoki D. Weekly administration of temsirolimus for heavily pretreated patients with clear cell carcinoma of the ovary: a report of six cases. *Int J Clin Oncol*. 2011 Jan 18. (査読あり)
 3. Abiko K, Mandai M, Hamanishi J, Matsumura N, Baba T, Horiuchi A, Mikami Y, Yoshioka S, Wakasa T, Shiozawa T, Konishi I. Oct4 expression in immature teratoma of the ovary: relevance to histologic grade and degree of differentiation. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(12):1842-8. (査読あり)
 4. Okamoto T, Matsumura N, Mandai M, Oura T, Yamanishi Y, Horiuchi A, Hamanishi J, Baba T, Koshiyama M, Shiozawa T, Konishi I. Distinguishing primary from secondary mucinous ovarian tumors: an algorithm using the novel marker DPEP1. *Mod Pathol*. 2010 Nov 12. (査読あり)
 5. Hayashi A, Horiuchi A*, Kikuchi N, Hayashi T, Fuseya C, Suzuki A, Konishi I, Shiozawa T. Type-specific roles of histone deacetylase (HDAC) overexpression in ovarian carcinoma: HDAC1 enhances cell proliferation and HDAC3 stimulates cell migration with down-regulation of E-cadherin. *Int J Cancer*. 2010;127(6):1332-46. (査読あり)
 6. Suzuki A, Horiuchi A, Ashida T, Miyamoto T, Kashima H, Nikaido T, Konishi I, Shiozawa T. Cyclin A2 confers cisplatin resistance to endometrial carcinoma cells via up-regulation of an Akt-binding protein, periplakin. *J Cell Mol Med*. 2010 Sep;14(9):2305-17. (査読あり)
 7. Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Kanai Y, Shiozawa T, Tonegawa S, Konishi I. Mice-lacking LMP2, immuno-proteasome subunit, as an animal model of spontaneous uterine leiomyosarcoma. *Protein Cell*. 2010 Aug;1(8):711-7. (査読あり)
 8. Suzuki A, Horiuchi A, Oka K, Miyamoto T, Kashima H, Shiozawa T. Immunohistochemical detection of steroid receptor cofactors in ovarian endometriosis: involvement of down-regulated SRC-1 expression in the limited growth activity of the endometriotic epithelium. *Virchows Arch*. 2010 Apr; 456(4):433-41. (査読あり)
 9. Hayashi T, Kobayashi Y, Horiuchi A, Hiraoka N, Kanai Y, Aburatani H, Tonegawa S, Konishi I, and Sano K. : Tumor immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape-in case of uterine leiomyosarcoma-. *Current Res. Immunol*. 2010; Inpress. (査読あり)
 10. Fakhry H, Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Ke H, Konishi I, Shiozawa T. Immunohistochemical detection of histone deacetylases in endometrial carcinoma: involvement of histone deacetylase 2 in the proliferation of endometrial carcinoma cells. *Hum Pathol*. 2010 Jun;41(6):848-58. (査読あり)
 11. Satoh T, Hatae M, Watanabe Y, Yaegashi N, Ishiko O, Kodama S, Yamaguchi S, Ochiai K, Takano M, Yokota H, Kawakami Y, Nishimura S, Ogishima D, Nakagawa S, Kobayashi H, Shiozawa T, Nakanishi T, Kamura T, Konishi I, Yoshikawa H Outcomes of fertility-sparing surgery for stage I epithelial ovarian cancer: a proposal for patient selection. *J Clin Oncol*. 2010 Apr 1;28(10):1727-32。 (査読あり)
 12. Ohira S, Miyake M, Kobara H, Kikuchi N, Osada R, Ashida T, Hirabayashi K, Nishio S, Kanai M, Shiozawa T. Fetal goitrous hypothyroidism due to maternal thyroid stimulation-blocking antibody: a case report. *Fetal Diagn Ther*. 2010;28(4):220-4. (査読あり)
 13. 堀内晶子、布施谷千穂、林晶子、菊地範彦、塩沢丹里：卵巣癌腹膜播種性転移の分子機序。産婦人科の実際 vol.59 No.10, pp1501-1508. 2010. (査読なし)
 14. 堀内晶子、塩沢丹里：卵巣癌発生の自然史と早期診断。信州医誌, 48:143~151, 2010 (査読あり)
 15. Miyamoto T, Horiuchi A, Kashima H, Suzuki A, Yamada T, Kurai M, Konishi I, Shiozawa T. Inverse correlation between Skp2 and p27(Kip1) in normal endometrium and endometrial carcinoma. *Gynecol Endocrinol*. 2009 Aug 31:1-10. (査読あり)

16. Yoshida J, Horiuchi A, Kikuchi N, Hayashi A, Osada R, Ohira S, Shiozawa T, Konishi I. Changes in the expression of E-cadherin repressors, Snail, Slug, SIP1, and Twist, in the development and progression of ovarian carcinoma: the important role of Snail in ovarian tumorigenesis and progression. Med Mol Morphol. 2009 Jun;42(2):82-91. (査読あり)
17. Kashima H, Shiozawa T, Miyamoto T, Suzuki A, Uchikawa J, Kurai M, Konishi I. Autocrine stimulation of IGF1 in estrogen-induced growth of endometrial carcinoma cells: involvement of the mitogen-activated protein kinase pathway followed by up-regulation of cyclin D1 and cyclin E. Endocr Relat Cancer. 2009 Mar;16(1):113-22. (査読あり)
18. Kashima H, Horiuchi A, Uchikawa J, Miyamoto T, Suzuki A, Ashida T, Konishi I, Shiozawa T. Up-regulation of nuclear receptor corepressor (NCoR) in progesterin-induced growth suppression of endometrial hyperplasia and carcinoma. Anticancer Res. 2009 Apr;29(4):1023-9. (査読あり)
19. Horiuchi A*, Kikuchi N, Osada R, Wang C, Hayashi A, Nikaido T, Konishi I. Overexpression of RhoA enhances peritoneal dissemination: RhoA suppression with Lovastatin may be useful for ovarian cancer. Cancer Sci. 2008 Dec;99(12):2532-9. (査読あり)
20. 堀内晶子 : 卵巣癌の発生および進展のエピジェネティクス解析-BRCA1メチル化およびS100A4脱メチル化の臨床的意義 日本産科婦人科学会雑誌. 60: 1844-1854, 2008(査読なし)

[学会発表] (計 5件)

1. 大平哲史、大久保奈緒、山崎悠紀、小野恭子、小原久典、菊地範彦、金井 誠、塩沢丹里 : 妊娠10週から嚢胞状エコー像が出現したplacental mesenchymal dysplasiaの1例 第18回日本胎盤学会学術集会 2010年9月30日、熊本
2. Horiuchi A : Possible role of hypoxia in ovarian cancer progression Special Oncology Seminar on "Hypoxia and Cancer" 婦人科腫瘍学セミナー 京都大学医学研

究科がんプロフェッショナル養成プラン事業 2010年6月7日 京都

3. 長田亮介、堀内晶子、林 晶子、布施谷千穂、菊地範彦、三橋祐布子、塩沢丹里 卵巣癌における癌抑制遺伝子Int6およびhypoxia inducible factor(HIF)- α サブユニット発現の検討 第62回日本産科婦人科学会総会・学術講演会、2010年4月23日、東京
4. 菊地範彦、堀内晶子、林琢磨、林晶子、長田亮介、布施谷千穂、塩沢丹里、小西郁生: 低酸素環境卵巣癌細胞においてS100A4発現はHypoxia-inducible factor-1 α を介し亢進する. 第60回日本産科婦人科学会・学術講演会 ポスター 2008年4月15日 東京
5. 堀内晶子 : 卵巣癌の発生および進展のエピジェネティクス解析-BRCA1メチル化およびS100A4脱メチル化の臨床的意義、第60回日本産科婦人科学会・学術講演会 シンポジウム 口演 2008年4月14日 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大平哲史 (OHIRA SATOSHI)

信州大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 90397315

(平成22年3月31日から大平哲史に代表者交替)

長田亮介 (OSADA RYOUSUKE)

信州大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 80418722

(2) 研究分担者

堀内晶子 (HORIUCHI AKIKO)

信州大学・医学部・講師

研究者番号: 80334895

塩沢丹里 (SHIOZAWA TANRI)

信州大学・医学部・教授

研究者番号: 20235493