

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791162
 研究課題名（和文） 卵巣癌腹膜播種形成において糖鎖が果たす役割の解明と分子標的治療への応用
 研究課題名（英文） The explication of the role of carbohydrates in peritoneal metastasis of ovarian cancer
 研究代表者
 野村 弘行（NOMURA HIROYUKI）
 慶應義塾大学・医学部・助教
 研究者番号：50327590

研究成果の概要（和文）：

シアリダーゼは細胞表面の糖鎖構造を修飾し、癌細胞の浸潤・転移能と関連することが知られている。本研究では、シアリダーゼが卵巣癌腹膜播種形成に与える影響につき検討を行った。

各種ヒト卵巣癌細胞株において高率にシアリダーゼを発現していることが確認され、シアリダーゼをノックダウンまたは阻害剤にて機能を抑制することにより、腹膜播種形成の抑制が可能であった。

本研究により、シアリダーゼが卵巣癌腹膜播種の新しい治療的ターゲットとなりうる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Decrease in sialidase expression might suppress peritoneal metastasis development in ovarian cancer.

Our results suggest that sialidase might represent a novel target for suppressing peritoneal metastasis in ovarian cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：卵巣癌、糖鎖、腹膜播種、シアリダーゼ

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌は近年増加傾向にあり、婦人科悪性疾患の中で主要な死因の 1 つとなっている。初期の患者は症状を伴わないために卵巣癌

患者の多くは腹膜播種や多量の腹水を伴った進行症例で発見される。進行卵巣癌は腫瘍減量手術と多剤併用化学療法で治療されるものの、いまだ長期予後の改善には至っていない。また進行例や再発例では、局所におけ

る周囲臓器への腫瘍の進展や遠隔転移病巣の形成のみでなく、腹腔内に腹膜播種形成による癌性腹膜炎や多量の腹水貯留という病態を引きおこす。このような病態は、治癒が困難なばかりか患者のQOLを著しく損ねる一因となっており、進行卵巣癌の治療における腹膜播種の制御は遠隔転移と同様に重要な治療目標である。このようなさまざまな病態をとる卵巣癌の治療は、画一的な細胞障害性薬剤の投与のみでは困難であり、さらに卵巣癌にはさまざまな組織型が存在し臨床病理学的性格も組織型により大きく異なることが明らかであるため、卵巣癌の病態の解明とそれに応じた治療の個別化が強く求められている。

一般に細胞の癌化とともに表層膜糖鎖の異常がみられるが、中でも細胞表面のシアル酸の変化は癌細胞の浸潤・転移能と深く関連しているとされる。シアル酸の変化は、細胞表面糖鎖からシアル酸を離脱するシアリダーゼ発現に大きく依存している。ヒトにおいては、細胞内局在および基質の違いにより4種類のシアリダーゼ(NEU1(リソソームシアリダーゼ)、NEU2(細胞質シアリダーゼ)、NEU3(形質膜シアリダーゼ)、NEU4(リソソーム膜シアリダーゼ))が知られているものの、シアリダーゼ発現が卵巣癌の病態にどのような影響を与えるかについては十分解明されていない。我々の研究グループでは、卵巣癌細胞におけるシアリダーゼ発現の多寡が卵巣癌の病態に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、細胞表面のシアル酸関連糖鎖の発現が特徴的な卵巣明細胞腺癌と細胞膜に局在するNEU3(形質膜シアリダーゼ)に着目し、卵巣明細胞腺癌における各種臨床病理学的因子とNEU3発現との関連を中心に検討した。その結果、NEU3発現は腹膜播種形成の病態と強く関連しており、卵巣明細胞腺癌の腹膜播種形成を予測する因子の1つであることが判明し、シアリダーゼが卵巣癌腹膜播種抑制の新しい治療的ターゲットとなりうる可能性を示した(Nomura H, et al. Oncol Res 2007; 16: 289-97)。

進行・再発卵巣癌の予後改善のためには従来の細胞障害性薬剤とは異なるアプローチである分子標的治療の開発が求められており、卵巣癌に特徴的な腹膜播種という病態において強い関与が推察されるシアル酸は、今後その中心的な位置を占めうる可能性がある。シアリダーゼをターゲットとした本研究が、卵巣癌における病態の解明および治療の個別化と予後の改善につながるものと考えている。

2. 研究の目的

癌細胞に発現する糖鎖構造は各種の癌腫においてその生物学的特徴に影響を及ぼし、糖鎖をターゲットとした治療は癌治療の中でも全く新しい分野として注目されている。我々は以前の研究において、糖鎖構造の1つであるシアル酸を脱離させる酵素であるシアリダーゼが卵巣癌腹膜播種抑制の新しい治療的ターゲットとなりうる可能性を示した。進行・再発卵巣癌の予後改善のためには従来の細胞障害性薬剤とは異なるアプローチである分子標的治療の開発が求められており、卵巣癌に特徴的な腹膜播種という病態において強い関与が推察されるシアル酸は、今後その中心的な位置を占めうる可能性がある。そこで、本研究においては、卵巣癌の腫瘍進展の一形態である腹膜播種におけるシアル酸およびシアリダーゼの役割を解明し、それをベースに分子標的治療への応用を試みることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 卵巣癌培養細胞株のシアリダーゼ発現解析
各種組織型由来の卵巣癌培養細胞株の内因性シアリダーゼ遺伝子発現状況をRT-PCR法を用いて解析する。
- (2) シアリダーゼ発現をノックダウンした卵巣癌培養細胞株の作成
各種卵巣癌培養細胞株のシアリダーゼ発現状況の解析の結果をもとに、シアリダーゼ発現細胞株を選定する。siRNAを用いて各種ヒトシアリダーゼ発現をノックダウンした細胞株を作成する。
- (3) シアリダーゼ発現と腹膜播種形成能との関連の検討
シアリダーゼ発現株およびノックダウンした低発現株と腹膜中皮細胞を用い、BCECF-AMで蛍光標識した各細胞株と腹膜中皮細胞を一定時間培養後、接着した細胞数を計測しシアリダーゼ発現の違いによる接着能の差を検討する。
- (4) シアリダーゼ発現と腹膜播種形成能との関連の検討
ヌードマウスを用いた腹腔内移植モデルを作成し、シアリダーゼ阻害剤投与による腹膜播種形成能、腫瘍増殖・進展形式の差を*in vivo*で検討する。その上で、シアリダーゼ阻害剤につき、腹膜播種抑制薬として臨床応用の可能性を探る。

4. 研究成果

- (1) 卵巣癌培養細胞株のシアリダーゼ発現解析

18 種類の各種組織型に由来するヒト卵巣癌由来細胞株を選定し、内因性シアリダーゼ (NEU1、NEU2、NEU3、NEU4) の mRNA 発現を解析した。NEU1 と NEU3 はすべての細胞株で発現を認めしたが、NEU2 と NEU4 は多くの細胞株で発現を認めなかった。

(2) シアリダーゼ発現をノックダウンした卵巣癌培養細胞株の作成

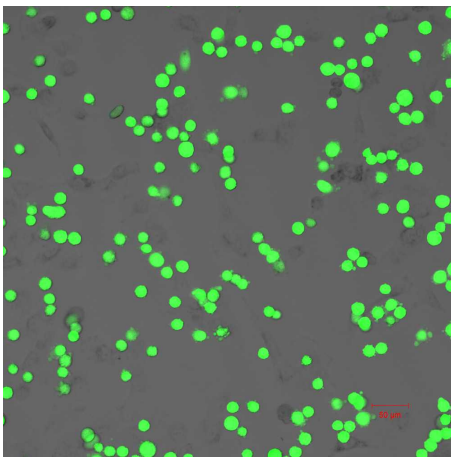
各種卵巣癌培養細胞株のシアリダーゼ発現状況の解析の結果をもとに、漿液性腺癌細胞株 MH、明細胞腺癌細胞株 ES2 を選定し、siRNA を用いて NEU1 および NEU3 発現をノックダウンしたシアリダーゼ低発現株を作成した。ノックダウンの状況については、real time RT-PCR にて確認を行った。

(3) シアリダーゼ発現と腹膜播種形成能との関連の検討

MH、ES2 とともに、シアリダーゼ低発現株ではコントロールと比較し有意に腹膜中皮細胞との接着能が低下した。

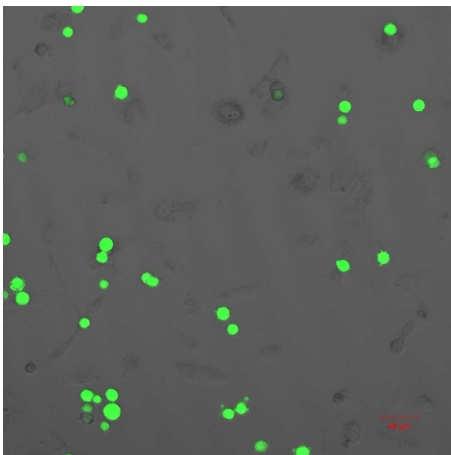
[Control 細胞]

培養シャーレに多数の蛍光標識された接着細胞を認める。



[シアリダーゼ低発現細胞]

Control と比較し接着細胞は少数である。



(4) シアリダーゼ発現と腹膜播種形成能と

の関連の検討

腹膜播種モデルマウスの検討では、control 群に比較し、シアリダーゼ阻害剤同時投与により腹膜播種形成の抑制および生存期間の延長が確認された。

以上の研究成果より、シアリダーゼの発現低下は卵巣癌における腹膜播種形成を抑制しうることが明らかとなり、今後、シアリダーゼが卵巣癌腹膜播種抑制の全く新しい治療のターゲットとなりうる可能性が示された。肺癌、乳癌や大腸癌の領域では、新規の治療法として分子標的治療が臨床応用され始めているが、卵巣癌においてははまだエビデンスのある分子標的治療薬は存在しない。本研究で得られた知見により、卵巣癌の腫瘍進展の一形態である腹膜播種におけるシアリダーゼの役割が解明され、それをベースに分子標的治療への応用が試みられることは、基礎と臨床を直接的に結びつけ、卵巣癌の新規治療法の確立と予後の改善に大きく貢献できるものと考えられ、今後の研究の展開が期待される。

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)

[学会発表] (計 1 件)

Nomura Hiroyuki, Kataoka Fumio, Tsuda Hiroshi, Tamada Yutaka, Suzuki Atsushi, Susumu Nobuyuki, Aoki Daisuke. Development of peritoneal dissemination of ovarian clear cell adenocarcinoma can vary with sialidase expression. XIII International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (IHC 2008), Gdansk, Poland. 2008/8/24

[その他]

ホームページ等

<http://web.sc.itc.keio.ac.jp/obgyn/04research/06gy2.html>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

野村 弘行 (NOMURA HIROYUKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号 : 50327590

(2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者
なし