

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：32419

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09654

研究課題名（和文）子宮頸癌の新規予防法開発

研究課題名（英文）Development of a Novel Preventive Method for Cervical Cancer

研究代表者

熊谷 勝義（Kumagai, Katsuyoshi）

人間総合科学大学・人間科学部・講師（移行）

研究者番号：20567911

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：現在、我が国では子宮頸癌の患者数や死亡率が増加傾向にあり、特に20～40代の若年層に罹患の増加が著しい。また、子宮頸癌は子宮頸部前癌性病（CIN）の時期であれば、比較的low侵襲性治療で予後も良好であるが、病変が進行した場合は外科的治療によりリスクを伴う。このため、2013年以降、我が国ではヒトパピローマウイルス（HPV）の感染を未然に防ぐ唯一の手段であったワクチン接種を積極的に控えている。本研究は、ワクチンに代わる予防対策を子宮頸癌前癌病変モデルマウスの解析から得られた分子を応用して開発し、若年層に対する画期的な予防法の確立を目指すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、前癌病変モデルマウスの解析から得られた分子を応用し、ワクチンに代わる新しいlow侵襲性の子宮頸癌予防法を開発することを目指しており、この新規予防法の確立により、若年層における子宮頸癌の罹患率を低減し、女性の健康を守り、予防医療を促進するとともに、HPV感染やその予防策に関する認識を高めることに大きな学術的および社会的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：Currently, the number of cervical cancer patients and the mortality rate are increasing in our country, particularly among young people aged 20 to 40. Cervical cancer, when detected at the cervical intraepithelial neoplasia (CIN) stage, can be treated with relatively low invasiveness and good prognosis. However, if the disease progresses, surgical treatment carries significant risks. Since 2013, our country has actively refrained from the only preventive measure, which was vaccination against the human papillomavirus (HPV), the cause of cervical cancer. This study aims to develop an alternative preventive measure by applying molecules obtained from the analysis of a mouse model of cervical cancer precancerous lesions. The results of this research will aim to develop a groundbreaking preventive method to prevent the onset of cervical cancer in the young age group, which is most susceptible.

研究分野：産科婦人科

キーワード：WAPL CIN MACROD1

1. 研究開始当初の背景

子宮頸癌の予防策は、定期的に子宮頸部細胞診を実施することで子宮頸部の状態をモニタリングする方法が挙げられるが、我が国の検診受診率は40%程度で著しく低く、特に20歳代を含む若年層では低迷したままである。また、HPV感染を防ぐ手段としてワクチン接種が挙げられるが、2013年以降ワクチン接種の積極的推奨が中止された。その結果、ワクチン導入前世代と同程度のリスクになることが推計される【Lancet Oncol. 2016,17:868-869.】。即ち、現在、子宮頸癌予防に対する効果的な手段がないため、ワクチンに代わる新薬の開発は急務である。進行した子宮頸癌は治療が困難であるが、比較的初期段階のCINは適切な治療を施すことで、発見から5年間の生存率が100%を示すことが報告されている【CA Cancer J Clin. 2002,52:342-362.】。つまり、子宮頸癌はCINの初期段階で治療を施せば完治できる病気であることに着目した。

子宮頸部でHPVやE6E7を高発現させたK14-HPV TgマウスやK14-E6E7 TgマウスのCIN様病態は、エストロゲンを連日長期に渡って膣へ塗布することで出現した表現型のため、CINの機序がヒトとは大きく異なる。即ち、現在までにヒトのCINを呈するモデル動物が存在しないことから、我が国の大きな課題である子宮頸癌の新薬開発へ支障を来している。応募者は、これまでにCINや進行した子宮頸癌の患者の病変部でのHuman wings apart like (hWAPL)活性化や腫瘍形成性に関与することを報告してきた【Cancer Res. 2004,15;64:3545-3549, Br J Cancer. 2005,92:290-293.】。この結果を踏まえ、マウスホモログのWAPLをマウスの子宮頸部で高発現する遺伝子導入マウス(WAPL Tgマウス)を作成し、子宮頸部前癌病変様組織構造を呈したマウス個体の作出に成功した。このモデル動物を応用して、HPVワクチンに代わる画期的な予防策の開発を目指す。

2. 研究の目的

本研究の目的は、エストロゲン受容体(ER)の制御下にあるMACROD1の役割を解明し、その過剰発現が子宮頸癌の進行に及ぼす影響を明らかにすることによって、新しい子宮頸癌予防策を開発する。

3. 研究の方法

本研究は、WAPLとMACROD1の相関性について動物細胞およびヒト由来細胞を用いて検証し、MACROD1を標的にした子宮頸癌予防の可能性について探る。つぎに、CRISPR/Cas9を用いて内在性MACROD1を抑制したヒト子宮頸癌由来細胞およびNull型MACROD1 KOマウスを作成し、細胞増殖能やコロニー形成能、腫瘍形成能の検証および細胞周期、増殖、子宮頸癌マーカーを用いた分子生物学的解析を行い、MACROD1の抑制効果とその影響を*in vitro*および*in vivo*で明らかにする。

4. 研究成果

(1)WAPLとCIN発症の関連性を調べるために、WAPLを過剰発現させたトランスジェニックマウス(WAPL Tgマウス)を作成した。WAPL Tgマウスでは、HPV E6/E7が存在しなくても、エストロゲンの影響下でCINが発症した。特に、WAPL Tgマウスの症状はHPV E6/E7ノックイン(KI)マウスよりも重篤であった。また、WAPL Tgマウスにおけるエストロゲン受容体1(ESR1)の発現率は野生型マウスに比べて有意に低かったが、ESR1によって制御されるMYCとCyclin D1の発現亢進を示した。この結果、WAPLがESR1のエストロゲン感受性を高める分子を活性化するためであると示唆された。

(2)マイクロアレイ解析により、WAPL Tgマウスの子宮頸部においてMACROD1の発現が亢進することが示された。また、WAPLをノックダウンしたヒト子宮頸癌細胞では、MACROD1、MYC、およびCyclin D1の発現が減少を示し、ESR1感受性アッセイでは、WAPLまたはMACROD1をノックダウンしたヒト子宮頸癌細胞でのエストロゲン感受性が低下した。また、ヒトのCIN1、CIN2-3、およびSCCにおいて、WAPLとMACROD1が類似した発現パターンを示し、両者の発現が正の相関を示した。これらの結果から、WAPLの高レベル発現が子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)の進展を促進し、エストロゲン感受性がMACROD1を介して増加させることが示された。これにより、WAPLとMACROD1のさらなる解析が、CINの進展を防ぐ新たな予防策の提供につながる可能性が示唆された。

(3)siRNAを用いてMACROD1をノックダウンしたヒト由来子宮頸癌細胞では、MYCの発現が減少することが示された(図1)。また、CRISPR/Cas9を用いてMACROD1ノックアウトマウスを作成に成功した。過排卵処理を施したMACROD1ノックアウトマウスの受精卵では、受精卵の発生時に生じる発生異常が抑制された(図2)。また、MACROD1ノックアウトマウスの生存率に影響が無いことが示された。これらの結果から、MACROD1がMYCの発現に重要な

役割を果たしており、子宮頸癌の進行に関与していることが示唆された。また、CRISPR/Cas9を用いて作成された MACROD1 ノックアウトマウスにおいて、過排卵処理を施した受精卵で発生異常が抑制される一方で、生存率に影響がないことは、MACROD1 が発生異常の原因となる分子経路に関与しつつも、生存に必須ではないことを示していることが考えられた。これらのことから、MACROD1 をターゲットとした治療が子宮頸癌の進行や発生異常を抑制する有効な手段となり得ることが示唆された。

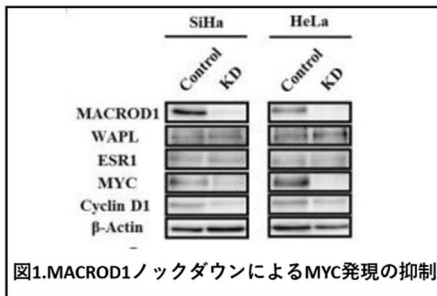


図1.MACROD1ノックダウンによるMYC発現の抑制

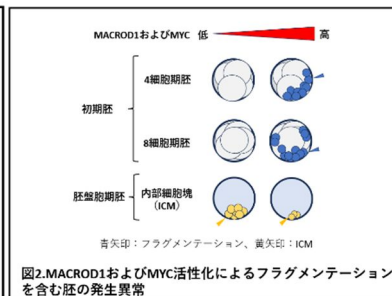


図2.MACROD1およびMYC活性化によるフラグメンテーションを含む胚の発生異常

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Katsuyoshi Kumagai, Masakatsu Takanashi, Shin-Ichiro Ohno, Yuichirou Harada, Koji Fujita, Keiki Oikawa, Katsuko Sudo, Shun-Ichi Ikeda, Hirotaka Nishi, Kosuke Oikawa, Masahiko Kuroda	4. 巻 40
2. 論文標題 WAPL induces cervical intraepithelial neoplasia modulated with estrogen signaling without HPV E6/E7.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncogene.	6. 最初と最後の頁 3695,3706
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-021-01787-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	須藤 カツ子 (Sudo Katsuko) (50126091)	東京医科大学・医学部・兼任講師 (32645)	
研究分担者	西 洋孝 (Nishi Hirotaka) (60307345)	東京医科大学・医学部・主任教授 (32645)	
研究分担者	高梨 正勝 (Takanashi Masakatsu) (80312007)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	
研究分担者	原田 裕一郎 (Harada Yuichirou) (80570168)	東京医科大学・医学部・助手 (32645)	

6. 研究組織（つづき）

	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	大野 慎一郎 (Ohno Shin-ichiro) (90513680)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関