

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16176

研究課題名（和文）子宮内膜癌におけるCLDN9発現の生物学的・臨床病理学的意義

研究課題名（英文）Biological and clinicopathological significance of CLDN9 expression in endometrial cancer

研究代表者

小島 学 (Kojima, Manabu)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30746970

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々のグループが開発した抗CLDN9モノクローナル抗体を用いて、子宮体がん手術材料を免疫染色した。その染色性を組織学的に半定量的評価し、CLDN9発現と予後や臨床病理学的因子との関連を解析した。子宮体がん高発現群はCLDN9低発現群に比し、有意に疾患特異生存率、無再発生存率は不良であり、さらに多変量解析を行うとCLDN9高発現は独立した予後因子であることが示された。CLDN9は子宮体がんの予後不良例を抽出する予後予測マーカーとして有用である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CLDN9は子宮体がんの予後不良例を抽出する予後予測マーカーとして有用である。さらにCLDN6と組み合わせることで、より広く予後不良症例を抽出することができる。今後、分子生物学的なメカニズムを行い、CLDN9を標的とした個別化医療を行うことができる可能性がある。さらに、CLDN6との抗体カクテルによる層別化や治療標的に貢献しうる。

研究成果の概要（英文）：The prognostic significance of CLDN9 expression in endometrial cancer was evaluated by immunohistochemical staining and semi-quantification using formalin fixed paraffin embedded specimens. The 5-year disease specific survival rate of high CLDN9 expression group was significantly lower than of low CLDN9 expression group. In addition, multivariate analysis revealed that high CLDN9 expression was an independent prognostic factor.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮体癌 細胞接着因子 クローディン9 がん診断マーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

クローディン (CLDN) は密着結合の主要な構成要素であり、26 種類以上からなるファミリー分子である。CLDN は組織特異的な組み合わせで発現するが、腫瘍化により、発現パターンの変化が見られることからがん診断マーカーとしての有用性が示されている。CLDN ファミリーは腫瘍性病変に特異的で、かつ低分化癌でも発現が保たれる場合が多く、理想的ながん診断マーカーと言える。

申請者は CLDN6 が子宮内膜癌の予後不良因子であり、子宮内膜癌細胞株において CLDN6 過剰発現はエストロゲン受容体依存性に悪性形質を増強することを明らかにした。ところで最近公開された The Cancer Genome Atlas データベースによると、CLDN6 と近縁な CLDN9 の mRNA 高発現が子宮内膜癌の予後不良因子である可能性が示されている。以上のことから「異常発現した CLDN9 を起点とするシグナルが、ER もしくは他の NRs の活性化を介して子宮内膜癌の悪性形質増強に作用する」という仮説をたてた。本研究ではこの仮説を検証し、子宮内膜癌における CLDN9 の予後マーカーおよび新規治療標的としての可能性を探る。

2. 研究の目的

申請者所属研究室は CLDN6 からレチノイン酸受容体のセリンリン酸化に帰結する新規のシグナル伝達経路を発見し、これが幹細胞の上皮分化を惹起することを明らかにした。また申請者は、CLDN6 が ER 依存的に子宮内膜癌の悪性形質を増強することを解明した。さらに乳癌では CLDN6 に加えて CLDN4 が ER や肝 X 受容体 (LXR) を活性化するという予備的研究結果を得ている。以上より CLDNs から核内受容体のセリンリン酸化に帰結する新規シグナル経路が、がんをはじめとする様々な生命現象に関与している可能性が示唆される。NIH によると CLDN9 の mRNA 高発現群は低発現群と比較して生命予後が悪いことがわかっている。本研究では CLDN9 が子宮内膜癌の予後マーカーとして有用であるかを外科病理学的に検討することを目的とする。

3. 研究の方法

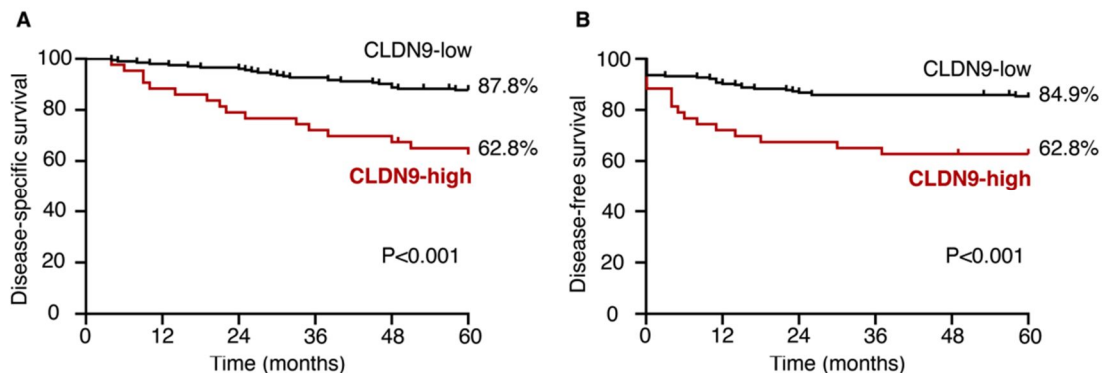
申請者所属研究室で最近作製した CLDN9 モノクローナル抗体を用いて、免疫染色用に染色条件の最適化を行った。また、手術を行った子宮内膜癌症例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を CLDN9 の免疫染色を行い、半定量的評価を行った。CLDN9 発現と臨床病理学的因子、予後との関連を検討した。さらに申請者が以前報告した CLDN6 発現との関連性について検討を行った。

4. 研究成果

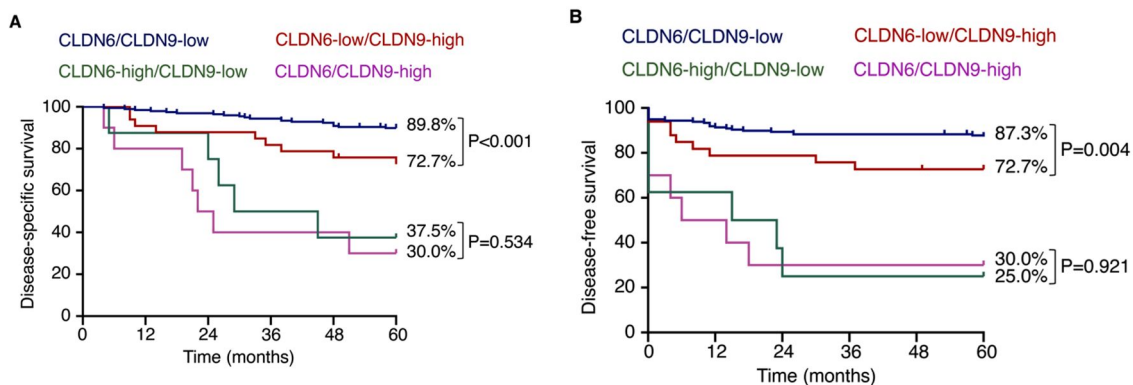
子宮内膜癌 248 例から得られたホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、CLDN9 モノクローナル抗体による免疫染色を行った。248 例のうち、CLDN9 高発現が 43 例 (17.3%)、CLDN9 低発現が 205 例 (82.7%) であった。CLDN9 高発現は組織型 (非類内膜癌)、リンパ節転移とそうかんしていた。CLDN9 高発現群と低発現群の 5 年疾患特異的生存率は、それぞれ 62.8% と 87.8% ($P < 0.001$) であった。また、5 年無病生存率はそれぞれ 62.8%、84.9% であった。単変量解析の結果、CLDN9 高発現は予後不良因子の一つであることが示された (ハザード比, 3.64; 95% CI, 1.94-6.81; $P < 0.001$) さらに多変量解析を行ったところ、CLDN9 の高発現は独立した予後不良因子であることが示された (ハザード比, 4.99; 95% CI, 1.96-12.70; $P < 0.001$)。次いで、CLDN9 発現と CLDN6 発現を比較した。子宮内膜癌の予後不良因子である CLDN6 の発現と有意に相関していた ($P < 0.001$) が、CLDN9 と CLDN6 の陽性領域は重ならないことが明らかとなった。CLDN6 高発現/CLDN9 高発現、CLDN6 高発現/CLDN9 低発現、CLDN6 低発現/CLDN9 高発現、CLDN6 低発現/CLDN9 低発現の 5 年疾患特異的生存率は、それぞれ 30.0%、37.5%、72.7%、89.8% であった。また、5 年無病生存率は CLDN6 高発現/CLDN9 高発現、CLDN6 高発現/CLDN9 低発現、CLDN6 低発現/CLDN9 高発現、CLDN6 低発現/CLDN9 低発現でそれぞれ 30.0%、25.0%、72.7%、87.3% であった。疾患特異生存率、無病生存率ともに CLDN6 高発現は CLDN9 発現に関わらず、予後不良であったが、CLDN6 低発現中、CLDN9 高発現は CLDN9 低発現に比べ、有意に予後不良であることが示された。CLDN6 低発現症例において単変量解析を行うと、CLDN9 高発現が予後不良因子の一つであることが示された。

以上より、CLDN9 が子宮内膜癌の新規予後マーカーであること、さらに CLDN9 は CLDN6 と組み合

わせることで、予後不良群を抽出することができることが明らかとなった。



CLDN9 高発現群は CLDN9 低発現群に比べ、疾患特異生存、無病生存ともに有意に短い。



CLDN6 高発現群は CLDN9 発現に関わらず、予後不良である。CLDN6 低発現群では CLDN9 高発現群が CLDN9 低発現群に比べ有意に予後不良である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kojima Manabu, Sugimoto Kotaro, Tanaka Mizuko, Endo Yuta, Kato Hitomi, Honda Tsuyoshi, Furukawa Shigenori, Nishiyama Hiroshi, Watanabe Takafumi, Soeda Shu, Fujimori Keiya, Chiba Hideki	4. 巻 12
2. 論文標題 Prognostic Significance of Aberrant Claudin-6 Expression in Endometrial Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2748 ~ 2748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12102748	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 該当する

1. 著者名 Rahman Abidur, Kobayashi Makoto, Sugimoto Kotaro, Endo Yuta, Kojima Manabu, Furukawa Shigenori, Watanabe Takafumi, Soeda Shu, Hashimoto Yuko, Fujimori Keiya, Chiba Hideki	4. 巻 22
2. 論文標題 Reduced Claudin-12 Expression Predicts Poor Prognosis in Cervical Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3774 ~ 3774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073774	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 該当する

1. 著者名 Kojima M, Sugimoto K, Kobayashi M, Ichikawa-Tomikawa N, Kashiwagi K, Watanabe T, Soeda S, Fujimori K, Chiba H.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Aberrant Claudin-6-Adhesion Signaling Promotes Endometrial Cancer Progression via Estrogen Receptor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Cancer Res . in press	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Endo Yuta, Manabu Kojima, Asami Kato, Chikako Okabe, Tetsu Sato, Makiko Ueda, Norihito Kamo, Shigenori Furukawa, Shu Soeda, Takafumi Watanabe, Keiya Fujimori
2. 発表標題 Claudin-9 is a novel biomarker of the prognosis of Endometrial cancer
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤雄大、杉本幸太郎、Rahman Abidur、小林信、千葉英樹
2. 発表標題 Claudin-9は子宮体がんの新規予後マーカーである
3. 学会等名 第72回日本電気泳動学会
4. 発表年 2021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
研究協力者	千葉 英樹 (Chiba Hideki)		
研究協力者	杉本 幸太郎 (Sugimoto Kotaro)		
研究協力者	小林 信 (Kobayashi Makoto)		
研究協力者	藤森 敬也 (Fujimori Keiya)		
研究協力者	渡邊 尚文 (Watanabe Takafumi)		

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
研究協力者	添田 周 (Soeda Shu)		
研究協力者	古川 茂宜 (Furukawa Shiegnori)		
研究協力者	遠藤 雄大 (Endo Yuta)		

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