

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 19 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591438

研究課題名（和文） 乳癌の発生・進展におけるカテプシン E の役割と乳癌の発症予防に関する研究

研究課題名（英文） The role of cathepsin E in mammary carcinogenesis and prognosis in breast cancer

研究代表者

杉浦 博士（SUGIURA HIROSHI）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：20381882

研究成果の概要（和文）：血清カテプシン E の活性は乳癌の患者において健常人女性より低いこと、また乳癌の病期が進行するに従い血清カテプシン E の活性が低下することを見出した。さらに、浸潤性乳癌の患者において、血清カテプシン E の濃度が高いほど予後が良好であることを見出した。カテプシン E ノックアウトマウスを用いた基礎的検討を行い、カテプシン E ノックアウトマウスは乳腺特異的に腫瘍を形成すること、カテプシン E は乳腺において Wnt5a の産生、分泌を誘導することを見出した。

研究成果の概要（英文）：Cathepsin E an endosomal aspartic proteinase associated with immune responses. The serum cathepsin E activity was significantly decreased according to the stages and progression in breast cancer, and was significantly associated with disease-free and overall survival. Cathepsin E-deficient mice frequently and age-dependently developed mammary tumors. Cathepsin E controls proper trafficking and secretion of Wnt5a that triggers normal growth and development of mammary glands, representing a novel mechanism whereby cathepsin E can inhibit mammary carcinogenesis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：乳癌、カテプシン E、予後因子

1. 研究開始当初の背景

(1) カテプシン E はプロテアーゼ（タンパク質分解酵素）であり、ペプチド結合を不可逆的に切断する酵素で、微生物から哺乳動物まで広く分布し多彩な細胞機能を担っている。

(2) 九州大学の山本博士らはカテプシン E が

癌細胞表面から TRAIL というアポトーシス誘導分子を特異的に切断遊離し癌細胞表面のデス受容体に結合しアポトーシスを誘導すること、また、カテプシン E が腫瘍血管新生を強力に阻害したり、マクロファージなどの免疫系細胞を活性化することにより、腫瘍の増殖・転移を抑制していることを明らかに

した。カテプシンEやその発現を増加させる薬剤が、癌に対する毒性の少ない新たな治療薬になり得る可能性を示唆したものととして注目されている。

(3) 連携研究者の川久保らは、癌におけるカテプシンEの役割について、カテプシンE導入（トランスジェニック）マウスを作成し、血中カテプシンEの発現レベルが高いほど癌の増殖能、転移能が低いことを見出した。乳癌の進展にカテプシンEが関与していることを示唆する結果である。

(4) カテプシンEノックアウトマウスの乳腺において、過形成や乳癌の前癌病変が認められることを見出した。乳癌の発症にカテプシンEが関与していることを示唆する結果であり、予防薬と成り得る可能性が考えられる。

2. 研究の目的

乳癌の発生・進展におけるカテプシンEの役割を解析し、下記3点を明らかにする。

(1) 血清カテプシンEの乳癌の早期発見および予後予測因子としての意義

(2) カテプシンEの乳癌の発生・進展への関与

(3) カテプシンEの乳癌の予防薬としての可能性

3. 研究の方法

(1) 乳癌患者と健常人女性の血清カテプシンEの濃度、活性の比較解析

(2) 乳癌患者の血清カテプシンEの濃度、活性と乳癌の臨床病理学的因子、予後との相関の検討

(3) カテプシンE導入（トランスジェニック）マウスとカテプシンEノックアウトマウスを用いた検討

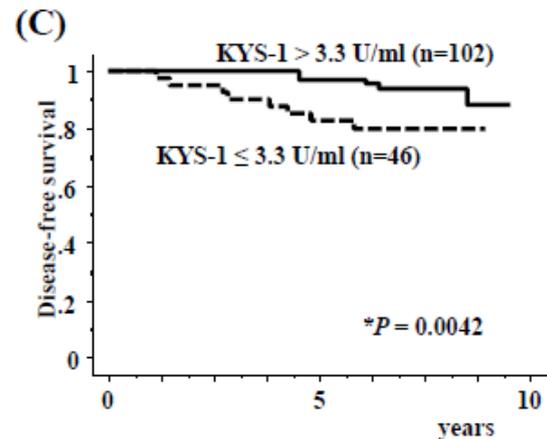
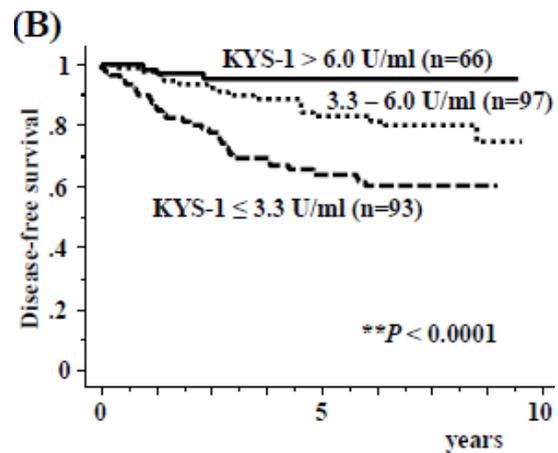
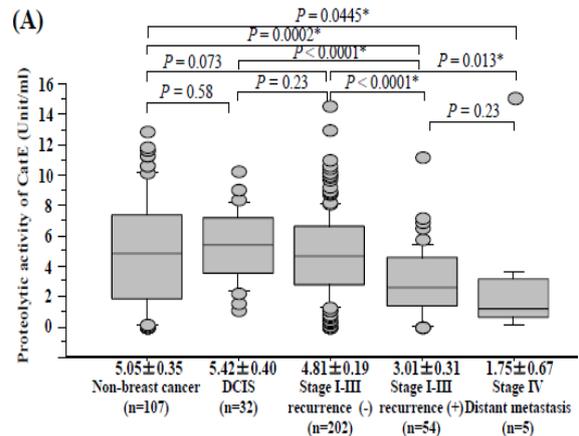
4. 研究成果

(1) 血清カテプシンE活性は、健常人女性で高く、乳癌患者、特に病期が進行するほど低下している (A)。

遠隔転移が存在する Stage IV 患者では、有意に血清カテプシンE活性が低い (A)。

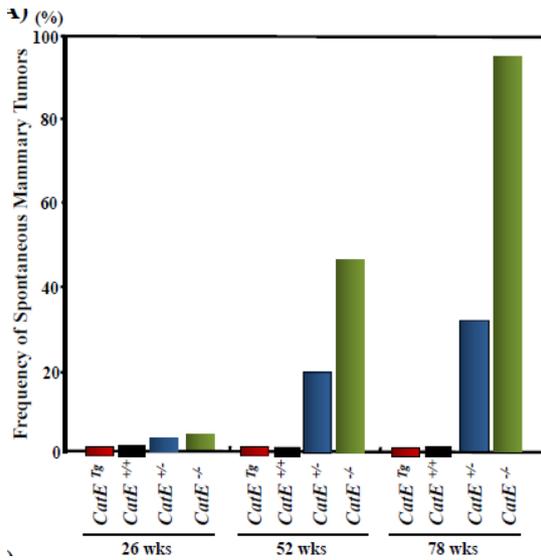
(2) 初発乳癌患者において、血清カテプシンE活性が高い人は有意に予後良好であった (B)。

腋窩リンパ節転移陰性例のみにおいても、血清カテプシンE活性が高い人は予後良好であった (C)。



Cox 比例ハザードモデルにおける多変量解析において、リンパ節転移と血清カテプシンE活性のみが全生存率に影響を与える因子であった。

(3) カテプシンEトランスジェニックマウスとカテプシンEノックアウトマウスにおける、自然発症の乳腺腫瘍の頻度

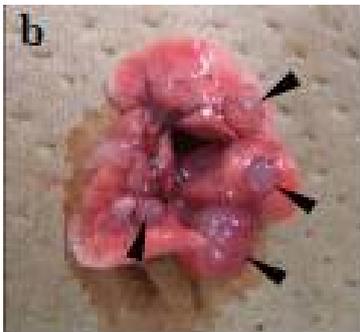


カテプシンEトランスジェニックマウスでは自然発症の乳腺腫瘍は認めなかったが、カテプシンEノックアウトマウスでは52週で約50%、78週で95%において乳腺腫瘍が自然発症し、さらに肺転移を形成していた。

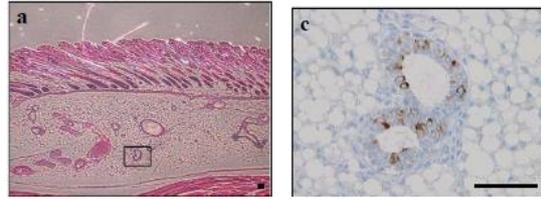
a カテプシンEノックアウトマウスに発生した乳腺腫瘍



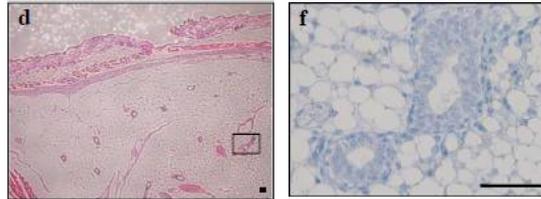
b カテプシンEノックアウトマウスに発生した乳腺腫瘍からの肺転移病巣



(4) wild-type マウスの乳腺では、正常乳腺の発育を認め、カテプシンEが正常乳管上皮細胞に発現している。

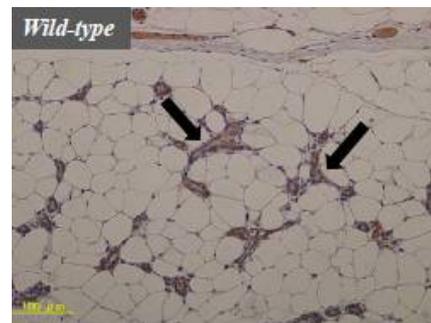


カテプシンEノックアウトマウスでは、未熟な乳管上皮をわずかに認めるのみで、カテプシンEの発現は認めない。



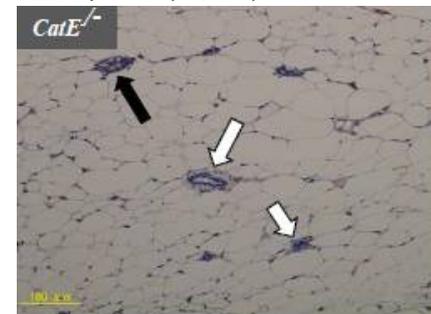
(5) マウス乳管上皮細胞におけるβカテニンの発現

wild-type マウス



βカテニンは正常乳管上皮細胞の細胞質と核に発現している。

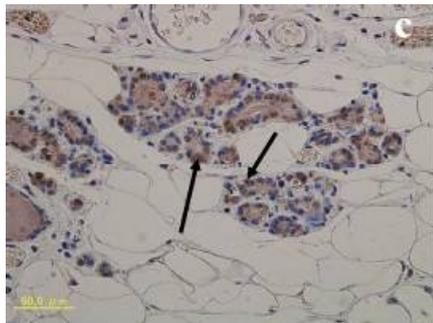
カテプシンEノックアウトマウス



βカテニンは核のみに発現を認める。

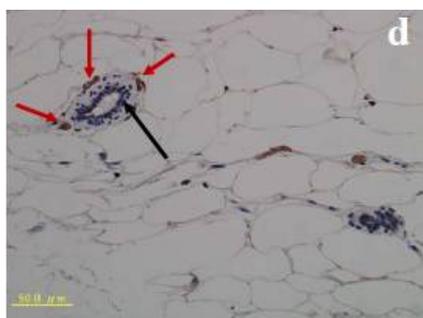
(6) マウス乳管上皮細胞における Wnt5a の発現

wild-type マウス



Wnt5a は wild-type マウスの乳管上皮細胞では主に細胞質に、一部、核に発現している。Wnt5a とカテプシンEは2重染色において共発現していた。

カテプシンEノックアウトマウス



カテプシンEノックアウトマウスではWnt5aを一部の核に認めるのみである。

(7) Wnt5a は、カテプシンEノックアウトマウスの乳腺腫瘍の発生、進展に関与する。

カテプシンEノックアウトマウスの乳腺細胞の培養上清中では、wild-type マウスに比べて Wnt5a 蛋白発現が著しく低下していた。

Wnt/ β カテニン経路にある Ror2 チロシンクナーゼは、Wnt5a により直接、活性化されることが知られている。カテプシンEノックアウトマウスの乳腺細胞では、wild-type マウスに比べてリン酸化 Ror2 発現が著しく低下していた。

wild-type マウスの乳腺細胞でカテプシンEを siRNA によりノックアウトすると、成熟した Wnt5a の発現と培養上清中への分泌が抑制された。

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0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉浦 博士 (SUGIURA HIROSHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号：20381882

(2) 研究分担者

遠山 竜也 (TOYAMA TATSUYA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：30315882

山下 啓子 (YAMASHITA HIROKO)

北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70332947

(3) 連携研究者

川久保 友世 (KAWAKUBO TOMOYO)

九州大学・大学院薬学研究院・特任助教
研究者番号：70507813