

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 6 月 12 日現在

機関番号：	34401
研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2010～2012
課題番号：	22591869
研究課題名（和文）	癌幹細胞をターゲットとした子宮内膜癌の浸潤・転移制御と分子標的治療への応用
研究課題名（英文）	EMT including cancer stem cells regulates invasion and metastasis of uterine endometrial cancer.
研究代表者	
	寺井 義人 (Terai Yoshito)
	大阪医科大学・医学部・准教授
研究者番号：	90278531

研究成果の概要（和文）：

子宮内膜癌において EMT 現象が予後因子となる事が明らかになった。さらに子宮内膜癌細胞において CD24 は EMT 現象（E-cadherin 減弱や Snail および Slug の核内染色陽性）のマーカーになる事が示唆され、今後 EMT の制御機構の解明が新たな治療ターゲットとなりうる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：

E-cadherin and nuclear expression of Snail and Slug have a prognostic impact in endometrial cancer. CD24 correlated with EMT status in endometrial cancer. Therefore, to clarify and control of EMT signaling is a promising molecular targeting therapy in endometrial cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：子宮内膜癌；幹細胞；EMT；薬剤耐性；浸潤・転移

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜癌は近年、子宮癌全体に占める割合も 40%に達し増加傾向にある。子宮内膜癌に対する主治療としては、National Cancer

Institute (NCI)による治療ガイドラインに示されているように黄体ホルモン療法、放射線療法などがあるが、抗がん化学療法の有用性が認識されつつある。しかしながら、1/2 以

上の筋層浸潤例、Grade 3 類内膜腺癌、転移を認める症例、漿液性腺癌、明細胞腺癌、癌肉腫など難治性子宮内膜癌に対する追加治療については未だ確立されておらず、放射線療法や抗癌剤治療を行うも早期に転移をおこすのみならず治療抵抗性を示し予後は著しく悪い。我々は癌の浸潤・転移の制御や治療抵抗性癌の治療に向けた研究に注目してきた。近年癌細胞の浸潤・転移過程において、一定の細胞形態を持って基底膜上に配列している上皮系の細胞がその細胞極性を失い、間葉系細胞に変化し、間質内へ浸潤し転移する現象として上皮間葉形態転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition: EMT) が注目されている。この EMT は我々が研究ターゲットとしてきた Akt および下流の mTOR、HIF-1 α 、NF κ B の活性化により調整されていることや、これらの制御に Zing-finger 型転写因子 Snail や Twist、SIP1 などが関与していることが報告されている。また固形癌細胞においても Cancer Stem Cells と呼ばれる癌幹細胞が注目されている (O'Brien CA., et al. Nature. 2007 445: 106) が、Mani SA らは、Cancer Stem Cells (癌幹細胞) が浸潤転移する過程において EMT の現象を起こしているとし、両者の関連を示唆し (Cell 133: 704, 2008)、EMT を起こす細胞は、癌幹細胞と同様に強い自己複製能と腫瘍形成能を有し、薬剤に耐性を示すことが明らかとなりつつある。子宮内膜癌における EMT の意義については未だ明確ではない。

2. 研究の目的

我々は EMT 現象を引き起こす細胞を研究する上で癌幹細胞の有用な表面マーカーとして乳癌、膵臓癌で注目されている分子量 35-45KDa のグリコシルホスファチジルイノシトール結合型シアロ糖タンパクで、細胞表面に存在しさまざまな癌種で過剰発現が予後悪化因子であると報告されている CD24 に着目し子宮内膜癌における EMT の意義と CD24 の意義について検討した。

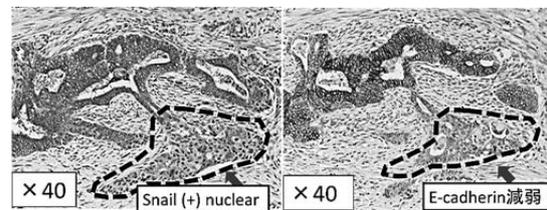
3. 研究の方法

当科で初回手術を行った肉腫を除く子宮内膜癌 354 例 (異型内膜増殖症 17 例、類内膜腺癌 252 例、漿液性腺癌 18 例、明細胞腺癌 10 例、癌肉腫 22 例、腺棘・腺扁平上皮癌 27 例、その他 8 例) の組織マイクロレイ標本から CD24、E-cadherin、Snail、Slug の免疫染色を施行し、臨床病理学的因子、予後と比較検討した。また、子宮内膜癌細胞株

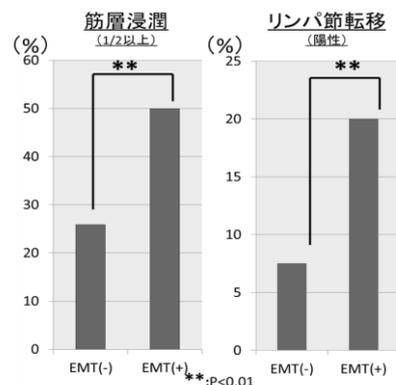
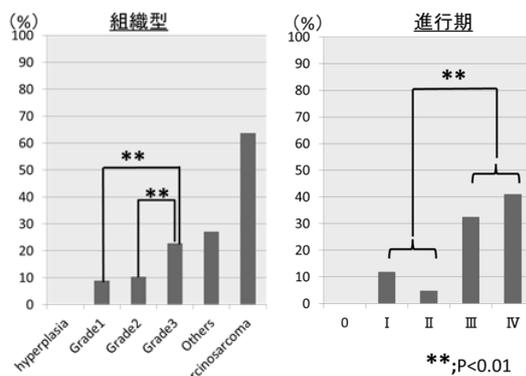
(Hec1A, Hec108) を用いて、CD24/CD44 発現細胞の有無で FACS および MACS で分離し、それぞれの機能解析を行った。

4. 研究成果

臨床病理学的検討では、354 例の病理組織標

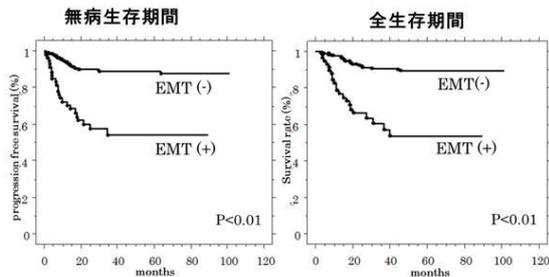


本を Snail E-cadherin に対する抗体で免疫染色したところ、腫瘍の浸潤の先端では

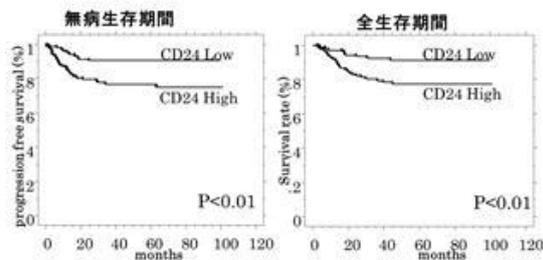


Snail の各染色が強発現しており、同部位は

E-cadherin 発現の減弱を認めた。つまり、腫瘍浸潤の先端では EMT が起きていることが示唆された。そこで、Snail+/E-cadherin- を EMT 陽性、Snail-/E-cadherin+ を EMT 陰性として、組織型、進行期、筋層浸潤の有無、リンパ節転移の有無について原病巣の EMT 現象が臨床上的どのような影響を与えているのか検討した。



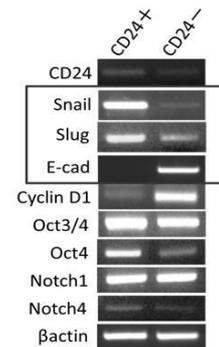
Hyperplasia では EMT 陽性例は無く、類内膜腺癌の G1 で 8.8%、G2 で 10.2%、G3 で 22.7%、特殊型で 27%、癌肉腫では 63.6%と



有意に高率に認められ、Grade1 から 3 まで上昇するに従い陽性率は上昇した。特に carcinosarcoma では 60%の症例で EMT 陽性進行期、筋層浸潤 1/2 以上、腹水細胞診陽性、リンパ節転移と有意に相関しており、また無増悪生存期間、全生存期間も有意に短縮していた。CD24 抗体を用い、病理組織標本を免疫染色し、臨床的予後の検討を行なったところ、CD24 強発現(CD24 high)症例は CD24 弱発現(CD24 low)症例より有意に予後不良であることが分かった。また、CD24+ は grade・組織型と相関し、リンパ節転移巣で有意に高発現していることが判明した。

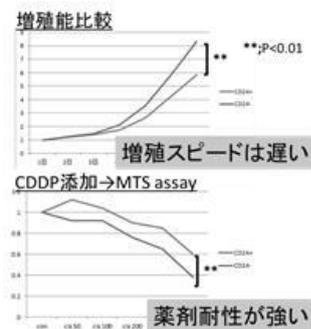
子宮内膜癌細胞株 Hec1A、Hec108 では、CD24/CD44 陽性細胞は、陰性細胞に比して、Snail、Slug の発現が高く、E-cadherin および cyclin D1 の発現の現弱を認めた。また、シスプラチン添加により、CD24/CD44 陽性

細胞は陰性細胞と比べて耐性傾向にあった。子宮内膜癌において EMT 現象が予後因子となる事が明らかになった。さらに子宮内膜癌細胞に



において CD24 は EMT 現象 (E-cadherin 減弱や Snail および Slug の核内染色陽性) のマ

ーカーになる事が示唆され、今後 EMT の制御機構の解明が新たな治療ターゲ



ットとなりうる事が期待される。

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)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Tanaka Y, Terai Y*, Yoo S, Tsunetoh S, Kanemura M, Tanabe A, Ohmichi M. Prognostic impact of EMT (Epithelial-Mesenchymal-Transition) related protein expression in endometrial cancer. *Cancer Biol Ther* 2013 Jan;14(1):13-9.
2. Tanaka Y, Terai Y*, Tanabe A, Sasaki H, Sekijima T, Fujiwara S, Yamashita Y, Kanemura M, Ueda M, Sugita M, Franklin WA, Ohmichi M. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor gene mutations and the aberrant phosphorylation of Akt and ERK in ovarian cancer. *Cancer Biol Ther* 11, 50-57, 2011.

〔学会発表〕（計 3 件）

1. 田中良道、寺井義人、斎藤奈津穂、川口浩史、中村路彦、兪史夏、藤原聡枝、佐々木浩、恒遠啓示、金村昌徳、田辺晃子、大道正英「子宮体癌における EMT のマーカーとしての CD24 の有用性」第 64 回日本産科婦人科学会,2012.4 月 13～15 日、神戸
2. 田中良道、寺井義人、川口浩史、高井雅聡、藤原聡枝、兪史夏、恒遠啓示、佐々木浩、金村昌徳、田辺晃子、大道正英「prognostic impact of EMT (epithelial-mesenchymal-transition) related protein expression in endometrial cancer」2012 American Association for Cancer Research , 2012 March 31 – April 4 Chicago, USA
3. 寺井義人、田中良道、川口浩史、兪史夏、藤原聡枝、高井雅聡、恒遠啓示、金村昌徳、田辺晃子、大道正英 「婦人科癌と EMT (epithelial mesenchymal transition)」Frontiers in Gynecologic Oncology 第 50 回日本婦人科腫瘍学会 2011 年 7 月 22～24 日、札幌

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺井 義人 (Terai Yoshito)
大阪医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90278531

(2) 研究分担者

大道 正英 (Ohmichi Masahide)
大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：10283764

田辺 晃子 (Tanabe Akiko)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：70454543

金村 昌徳 (Kanemura Masanori)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：40298782

佐々木 浩 (Sasaki Hiroshi)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：80432491