

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 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791548

研究課題名（和文） 子宮体癌における間質-腫瘍相互作用の臨床的意義の解明と新規分子標的の探索

研究課題名（英文） Genetic expression involving the cancer-stroma interaction and its clinical significance in endometrial cancer

研究代表者

片岡 史夫（KATAOKA FUMIO）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：40306824

研究成果の概要（和文）：これまで悪性腫瘍の再発を予測する上で間質の遺伝子発現を対象にした報告は少なく，特に癌実質および間質の発現プロファイルを同時に解析した報告は存在しない．本研究では，子宮体癌において癌実質だけでなく間質における遺伝子発現が予後と関連することを明らかにした．選別した全遺伝子のうち 11 遺伝子の発現が，子宮体癌の癌実質および間質で共通して再発と関連しており，これらの遺伝子については癌-間質相互作用の関与が示唆された．

研究成果の概要（英文）：Endometrial cancer and stromal tissues were microdissected and separate microarray analysis were performed using GeneChip. By microarray analysis, 11 candidate genes associated with disease progression were identified, and these genes may be associated with cancer-stroma interaction 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	2,400,000	720,000	3,120,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：癌，マイクロアレイ，

1. 研究開始当初の背景

進行子宮体癌の治療成績の向上には，癌の浸潤・転移機構を解明することが重要課題であるが，これまで行われてきたのは癌細胞自体をターゲットとした研究であった．癌細胞の性格を規定する因子は，癌細胞自体の生物学的特性だけではなく，癌細胞周辺の間質細胞や炎症細胞からの影響（宿主因子）も重要である．即ち癌の進展には，癌の進展に適した微小環境が必要であり，これは癌細胞周囲の微

小組織環境における増殖因子やサイトカインなどの関与が想定される．また癌周辺の微小環境が，抗癌剤感受性と関連するとの報告もある．しかし，これらの「腫瘍と間質の相互作用」は重要性が強く認識されているが，臨床検体での検討は非常に困難であり，ほとんど明らかにされていない．

2. 研究の目的

子宮体癌組織における癌細胞，癌間質細胞

の遺伝子発現解析を同時に実施し、間質 - 腫瘍相互作用の観点から予後（癌の再発）と関連する遺伝子を同定し、さらに化合物アレイを用いて子宮体癌の新規分子標的薬発見の可能性を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)対象：類内膜腺癌 60 例。年齢の中央値は 55 才 (25 - 81 才), 進行期 (I 期 : 31, II 期 : 4, III 期 : 20, IV 期 : 5), 分化度 (G1 : 19, G2 : 30, G3 : 11) を対象とした。全例で標準手術が実施され、術後化学療法は 50 例 (doxorubicin+cisplatin:37 例, platinum+taxane:13 例) で施行され、そのうち 38 例が無病生存している。全症例の観察期間の中央値は 1,830 日 (120 - 3,375 日) で、無病生存例では 2,023 日 (1,680 - 3,375 日) である。

(2)アレイ解析:体癌凍結組織 60 例を用いて、laser capture microdissection (PALM CombiSystem - PALM MicroTweezers, ZEISS 社) を施行し癌実質および間質より RNA を抽出後、アレイ解析に供した。Microarray tip は HumanRef-8 BeadChip (Illumina 社製) を使用し、Whole Genome DASL Assay にて解析した。同解析法は、検出に必要な cDNA 塩基配列が 50 塩基長で済むため、部分分解した RNA サンプルでも効果的な検出が可能である。

(3)再発に関与する遺伝子の抽出：再発群と無再発群で発現の異なる遺伝子を、再発をイベントとした Cox 単回帰にて癌実質および間質毎に抽出した ($p < 0.0005$)。

(4)再発予測モデルの開発：抽出した遺伝子セットを候補変数とし、再発を結果変数としたロジスティック回帰による変数選択を行い予測モデルを構築する。構築したモデルを

用いて各個人の再発率を予測し、再発率が 0.5 以上であれば再発高リスク群と判定して実際に観測された再発と、予測された再発の一致率をもって正診率を算出した。

(5)抽出した間質発現遺伝子のontology解析：我々は卵巢癌の間質のアレイ解析を実施し、予後と関連する発現遺伝子を 52 個抽出している。また乳癌でも間質遺伝子発現が予後と関連することが報告されている。子宮体癌、卵巢癌および乳癌では進展様式が異なる。すなわち卵巢癌では表層上皮から発生した後にすぐに腹腔への播種をきたすが、子宮体癌および乳癌では周囲の正常組織へ直接浸潤することで進展する。これらの臨床的知見より、間質の役割も癌種により異なる可能性が示唆される。そこで今回、子宮体癌、卵巢癌、乳癌において、予後と関連していた間質発現遺伝子のontologyをKEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) にて解析した。

4. 研究成果

(1)再発予測モデルの構築と診断精度

再発群と無再発群で発現が異なる遺伝子は、癌実質および間質それぞれで 88 個、57 個が抽出された ($p < 0.0005$)。その内、11 個は実質および間質で共通していた。その内訳は、それぞれシグナル伝達系：22 個 (25%)、16 個 (28%)、細胞発育：5 個 (6%)、5 個 (9%)、代謝：13 個 (15%)、6 個 (11%)、核酸代謝：8 個 (9%)、5 個 (9%) および免疫系：2 個 (2%)、3 個 (5%) であり、両群で差を認めなかった。予測モデルは癌実質 4 遺伝子、間質 3 遺伝子にて構築した。再発を予測できる正診率は、それぞれ 66%、73%であった。また予後不良群および良好群での progression free survival (PFS) は、癌

実質モデルを使うと 667 日 vs 3,318 日 (p<0.001), 間質モデルを使うと 862 日 vs 3,137 日(p<0.001)であった。

これまで悪性腫瘍の再発を予測する上で間質発現を対象にした報告は少なく,ほとんどは癌実質を対象にしたものであった。特に癌実質および間質の発現プロファイルを同時に解析した報告は存在しない。本研究では,癌実質だけでなく間質においても遺伝子発現と予後が関連することを明らかにした。正診率は実質モデルより間質モデルの方が良好な傾向にあった。すなわち,発現プロファイルにより予測モデルを構築する際は,間質発現を含めることで,より良好な結果が得られる可能性が示唆された。また今回,確立した予測モデルは期別等の臨床情報がない場合でも応用可能であり,術式の選別のための術前診断としても有用である。また,選別した全遺伝子のうち 11 遺伝子が癌実質および間質で共通して再発と関連しており,これらの遺伝子については癌 - 間質相互作用の関与が示唆された。

(2)Ontology 解析

子宮体癌,卵巣癌および乳癌の間質発現遺伝子解析で,シグナル伝達系に關与する遺伝子がそれぞれ 28%, 20%, 38% といずれの癌種でも高頻度に抽出されていた。

代謝に關与する遺伝子は,それぞれ 7%, 23%, 4%, 核酸代謝に關与する遺伝子は 9%, 20%, 12%で,子宮体癌は乳癌と類似した傾向を示し,卵巣癌とは異なっていた。

子宮体癌の間質発現は乳癌と類似し,卵巣癌とは異なっていた。すなわち,このことは癌周囲の間質を中心とした癌微小環境をター

ゲットにした治療戦略を考える場合,その癌間質の特性を考える必要性を支持している。

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 4 件)

Kataoka F, Tsuda H, Arao T, Nishimura S, Tanaka H, Nomura H, Chiyoda T, Hirasawa A, Akahane T, Nishio H, Nishio K, Aoki D. EGR1 and FOSB gene expressions in cancer stroma are independent prognostic indicators for epithelial ovarian cancer receiving standard therapy. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012 Mar;51(3):300-12. (査読有)

Nishimura S, Tsuda H, Kataoka F, Arao T, Nomura H, Chiyoda T, Tanaka H, Susumu N, Nishio K, Aoki D. Overexpression of cofilin1 can predict the progression free survival on epithelial ovarian cancer. *Human Pathol* 4, 516-519, 2011. (査読有)

Nishimura S, Tsuda H, Nomura H, Kataoka F, Chiyoda T, Tanaka H, Tanaka K, Susumu N, Aoki D. The expression of hypoxia inducible 2 (HIG2) protein in the uterine cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*, XXXII, 146-149, 2011 (査読有)

Tominaga E, Tsuda H, Arao T, Nishimura S, Takano M, Kataoka F, Nomura H, Hirasawa A, Aoki D, Nishio K. Amplification of GNAS may be an independent, qualitative, and reproducible biomarker to predict progression-free survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2010 Aug 1;118(2):160-6. (査

読有)

〔学会発表〕(計6件)

発現解析による子宮体癌の再発予測モデルの開発/津田浩史, 井口蓉子, 片岡史夫, 野村弘行, 田中英雄, 千代田達幸, 平沢晃, 進伸幸, 青木大輔/2011年10月2日(名古屋, 名古屋国際会議場)/第31回 日本分子腫瘍マーカー研究会

新しい細胞情報解析システムの開発 治療成績の向上を目指して /津田浩史/2011年8月28日(大阪, リーガロイヤルホテル大阪および大阪国際会議場)/第63回 日本産科婦人科学会学術集会

卵巣癌間質の遺伝子発現解析を用いた新規バイオマーカーの探索 癌間質のEGR-1発現は上皮性卵巣癌の予後予測因子である/片岡史夫, 津田浩史, 野村弘行, 千代田達幸, 赤羽智子, 平沢晃, 進伸幸, 青木大輔, 吉村泰典/2011年8月28日(大阪, リーガロイヤルホテル大阪および大阪国際会議場)/第63回 日本産科婦人科学会学術集会

間質における Vimentin 陽性となる紡錘形細胞の EGR-1 発現は, 上皮性卵巣癌の予後規定因子である/片岡史夫, 他/2010年9月23日(大阪, リーガロイヤルホテル大阪および大阪国際会議場)/第69回 日本癌学会学術総会

EGR-1 gene expression of fibroblast in cancer stroma is a prognostic indicator of the epithelial ovarian cancer receiving standard therapy./kataoka F, et al/2010年9月14日(千葉, SHERATON GRANDE TOKYO BAY HOTEL) /Sixth International Symposium on Hormonal Oncogenesis

腫瘍間質の Vimentin 陽性細胞の EGR-1 発現は上皮性卵巣癌の予後と相関する/片岡史夫, 津田浩史, 西村貞子, 富永英一郎, 野村弘行, 千代田達幸, 平沢晃, 鈴木淳, 進伸幸, 青木大輔/2010年7月8日(つくば, つくば国際会議場)/第48回 日本婦人科腫瘍学会学術講演会

〔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
<http://www.obgy.med.keio.ac.jp/04research/06gy2.html>

6. 研究組織
(1)研究代表者
片岡 史夫 (KATAOKA FUMIO)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 40306824