

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592510

研究課題名(和文) 婦人科悪性腫瘍に対する新規治療法の開発：子宮平滑筋肉腫の生物学的応答性の解析

研究課題名(英文) Molecular approach of characterize of uterine leiomyosarcoma: development of novel therapy against uterine mesenchymal tumours

研究代表者

林 琢磨 (HAYASHI, Takuma)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：60359726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：子宮平滑筋肉腫(子宮肉腫)は、再発・転移を繰り返す難治性腫瘍である。子宮肉腫への治療法は外科的手法に限定され、延命効果が認められる分子標的治療法の確立が必要である。私達は、プロテアソーム構成因子LMP2の欠損マウスで、子宮肉腫が高頻度に自然発症することを報告した。そこで、私達は、各種子宮間葉系腫瘍の生検組織でのLMP2の発現状況について検討し、特異的に子宮肉腫でLMP2の発現が著しく減弱することを報告した。私達は、LMP2に着目した遺伝子プロファイリングを行い、子宮間葉系腫瘍に対する標的分子の探索を行っている。本研究では、カベオリン1の子宮間葉系腫瘍に対する標的分子としての可能性を検討した。

研究成果の概要(英文)：Although most smooth muscle neoplasms detected in the uterus are benign, uterine leiomyosarcoma (Ut-LMS) is extremely malignant with high rates of recurrence and metastasis. CAVEOLIN1 (CAV1) levels in the epithelial cells of some carcinomas have been reported to increase during tumor progression. We herein evaluated the relationship between CAV1 expression and the pathological features of patients diagnosed with uterine mesenchymal tumors. No clinical link was observed between CAV1 expression and the malignancy of uterine mesenchymal tumors. CAV1 expression was decreased in the normal myometrium, whereas it was strongly expressed in uterine mesenchymal tumors. However, CAV1 was not a potential biomarker to distinguish Ut-LMS from other uterine mesenchymal tumors. The perivascular expression of CAV1 was observed in all types of uterine mesenchymal tumors and myometria. The present study suggest that CAV1 may not act as a potential biomarker of uterine malignant mesenchymal tumors.

研究分野：子宮間葉系腫瘍

キーワード：子宮間葉系腫瘍 子宮平滑筋肉腫 子宮平滑筋種 LMP2 CAVEOLIN1

1. 研究開始当初の背景

子宮平滑筋肉腫(子宮肉腫)は、再発・転移を繰り返す難治性腫瘍である。人種を問わず成人女性の多くに発症する子宮平滑筋腫(子宮筋腫)と子宮肉腫の判別が極めて難しく、子宮肉腫への治療法は外科的手法に限定されている。そのため、延命効果が認められる分子標的治療法の確立が要望されている。

私達の研究グループは、プロテアソーム構成因子 LMP2 の欠損マウスで、子宮肉腫が高頻度に自然発症することを報告した。そこで、私達の研究グループは、病理ファイルより選別された各種子宮間葉系腫瘍の生検組織での LMP2 の発現状況について免疫組織化学染色により検討し、特異的に子宮肉腫で LMP2 の発現が著しく減弱することを報告した。提携医療機関との連携の基、私達の研究グループは、LMP2 に着目した DNA MicroArray の遺伝子プロファイリングを行い、子宮間葉系腫瘍に対する標的分子の探索を行っている。本研究発表では、カベオリン 1(CAVEOLIN 1)の子宮間葉系腫瘍に対する標的分子としての可能性について研究成果を加えて考察を行いたい。

2. 研究の目的

子宮平滑筋肉腫(子宮肉腫)は、再発・転移を繰り返す難治性腫瘍である^{1,2)}。人種を問わず成人女性のほぼ全員に発症する子宮平滑筋腫(子宮筋腫)は良性腫瘍であるが、子宮肉腫との判別が極めて難しい場合もある^{3,4)}。画像診断技術は日々進歩しているが、MRI 等の画像診断では、子宮肉腫は子宮筋腫と区別しにくい場合もある。現行の確定診断は、病理医の経験に基づいた摘出物の病理診断により行われるため客観性に欠けている。そのため、容易に、正確に診断できる技術の確立が要望されている。

これまで、私達の研究グループは、プロテアソーム構成因子 LMP2 の欠損マウスで、

子宮肉腫が高頻度に自然発症することを報告した⁵⁾。そこで、LMP2 の欠損マウスより得られた研究成果を基に、子宮間葉系腫瘍に対する標的因子を同定することを目標とする。

3. 研究の方法

私達の研究グループは、病理ファイルより選別された各種子宮間葉系腫瘍の生検組織での LMP2 の発現状況について免疫組織化学染色により検討した。その結果、子宮肉腫で特異的に LMP2 の発現が著しく減弱することが明らかとされた^{6,7,8)}。そこで、私達の研究グループは、LMP2 に着目した DNA MicroArray の遺伝子プロファイリングより、子宮筋腫を含む他の子宮間葉系腫瘍では発現が認められない子宮肉腫特異的に発現が認められる因子を探索している。次に、探索された分子を標的因子の候補とし、各種子宮間葉系腫瘍に対する標的因子としての生物学的性質について検討している。

4. 研究成果

提携の医療機関^(注1)との連携の基、私達の研究グループは、DNA MicroArray の遺伝子プロファイリングより標的因子として複数の候補因子、特にカベオリン 1(CAVEOLIN 1)と ERG1 を選別した⁹⁾。現在、私達の研究グループは、この因子と既に堀内らにより報告された Cyclin B1、Cyclin E を加えた 4 因子を各種子宮間葉系腫瘍に対する標的因子として検討を行っている^{9,10)}(表1、表2)。

Table 1. Differential expression of CAVEOLIN 1 and ERG1 in human uterine mesenchymal tumors

	Age (years)	n	CAVEOLIN 1 expression				ERG1 expression						
			mesenchyma tumors		perivascular SMCs		mesenchyma tumors		perivascular SMCs				
			-	+/-+1	focal+2	+++3	-	+/-+1	focal+2	+++3			
Normal (myometrium)	32-83	70	70			70	70			70			
Leiomyoma (Ordinary leiomyoma) (Cellular leiomyoma) (Tumor of uncertain malignant potential)	32-83	49 (29) (9) (11)		49		49		49		49			
Bizarre Leiomyoma	44,49,55	3		3		3		3		3			
Leiomyosarcoma	32-83	56		4	52		2	54		4	52	2	54

Results from IHC studies. +/1: partially positive (5% to 10% of cells stained); focal+2: focal-positive (focal or sporadic) staining with less than 5% of cells stained; +++3: diffuse-positive (homogeneous distribution with more than 90% of cells stained); +/-+1: including focal+; - : negative (no stained cells with appropriate antibodies).

表 1. ヒト子宮間葉系腫瘍(正常子宮平滑筋、子宮筋腫、子宮平滑筋肉腫)における CAVEOLIN1 分子と ERG1 (CAVEOLIN1 遺伝子への転写調節因子)の発現状況。

10. Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Sudo T, Ishiko O, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Potential diagnostic biomarkers: LMP2/ β 1i and Cyclin B1 differential expression in human uterine mesenchymal tumors. *TUMORI* 100: 509-516, 2014.

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69件)

①Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Tonegawa S, Konishi I. Development of malignant uterine tumors in *Psm9*-deficient mice. *ADVANCES IN BIOMEDICAL SCIENCE AND ENGINEERING*. Accepted at June 13, 2015. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

②Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Biological characterization of soft tissue sarcomas. *Annals of Translational Medicine*. 2015, 3(22), 368-372. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

③Hayashi T, Nakamura-Yanagidaira T, Hirano T, Murata T. Spontaneous optic neuropathy: involvement of NF- κ B activation by the calcineurin signal cascade. *Palliative Medicine and Nursing*. 2015, 2(1), 110. 1-8. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

④ Nakamura-Yanagidaira Y, Hirano T, Takahashi Y, Murata T, Hayashi T. Induction of bipolar-derived progenitors and adult optic nerve regeneration by administration of tacrolimus. *Jokull Journal* 2015, 65(10): 1-29. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑤Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Biological

characterization of the uterine malignant mesenchymal tumours. *BAOJ Cancer Research & Thrapy*. 2015, 1: 3 1: 013 (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑥Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Zharhary D, Yaegashi N, Tonegawa S, Konishi I. Molecular studies for understanding of the sarcomagenesis. *International Journal of Multidisciplinary Research and Information*. 2015; 1(4): 169-171. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑦Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Molecular Approaches for Understanding of the Uterine Malignant Mesenchymal Tumours. 2015, *American Journal of Bioscience and Bioengineering* 2015; 3(5): 47-49 (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑧ Hayashi T. Sarcomagenesis in *Psm9*-deficient mice; involvement of defective IRF1 activation. *Global Journal for Research Analysis* 2015, 4(9), 265-266. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑨Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Ishiko O, Kanai Y, Yaegashi N, Shiozawa T, Aburatani H, Konishi I. Uterine sarcomagenesis in *Psm9*-deficient mice; involvement of defect in expression of IRF1. *Jokull Journal* 2015, 65(8), 1-29. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑩Hayashi T. Expressions of CAVEOLIN 1 in human uterine mesenchymal tumors and normal myometrium. *Global Journal for Research Analysis* 2015, 4(8), 258-259. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑪ Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Ishiko O, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Tonegawa S, Konishi I. Immune surveillance for uterine mesenchymal tumor in the female genital system. *Journal of Science*. 2015, 5(10), 852-859. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑫ Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Ishiko O, Kanai Y, Yaegashi N, Shiozawa T, Tonegawa S, Aburatani H, Konishi I. Differential expressions of CAVEOLIN 1 in human uterine mesenchymal tumors and normal myometrium. *Jokull Journal* 2015, 65(7), 1-15. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑬ Hayashi T, Young R.A. Biological significance of ascorbic acid on HIV-1 life cycle. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. 5(3), 195-198. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑭ Hayashi T, Ichimura T, Yaegashi N, Shiozawa T, Konishi I. Expression of CAVEOLIN 1 in uterine mesenchymal tumors: no relationship between malignancy and CAVEOLIN 1 expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015. Jun 10. pii: S0006-291X(15)30101-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.06.046. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑮ Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Yaegashi N, Konishi I. Uterine Leiomyosarcoma Tumorigenesis in *Lmp2*-deficient Mice: Involvement of Impaired Anti-oncogenic Factor IRF1. *Anticancer Research*. 2015, 35(9), 4665-4679. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑯ Hayashi T, Nakamura-Yanagidaira T, Hirano T, Murata T. Spontaneous optic neuropathy: biological significance of calcineurin signal molecule, NF- κ B. *International Journal of Pharmacology Research*. 2015, 5(2), 65-70. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑰ Hayashi T, Mouse models of sarcoma for understanding of the tumorigenesis. *PARIPEX-Indian Journal of Research*. 2015, 4(4), 4-5. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑱ Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Ishiko O, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Konishi I. Somatic mutations in Interferon- γ signal molecules in human uterine leiomyosarcoma. *International Journal of Medical Science And Clinical Inventions*. 2015. 2(4), 846-850. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑲ Hayashi T, Hirano T, Murata T. Physiological significance of Rag1 in optic nerve neuropathy. *Int.J.Curr.Res.Aca.Rev*. 2015, 3(3), 179-184. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑳ Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Ichimura T, Hiraoka N, Sudo T, Nishimura R, Ishiko O, Kanai Y, Yaegashi N, Aburatani H, Shiozawa T, Tonegawa S, Konishi I. Molecular approach of tumorigenesis of human uterine leiomyosarcoma: Structure modeling of JAK1 molecule with somatic mutation. *Jokull Journal* 2015, 65(3), 1-21. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

㉑ Hayashi T, Negative effect of ascorbic acid in

gene regulation of provirus HIV-1. *Global Journal for Research Analysis* 2015, 4(2), 164-165. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

⑫ Hayashi T., Murata T. Physiological significance of Rag1 in retinal ganglion cell death. *Neural Regeneration Research*. 2015, 10(2), 192-194. (査読有り) (Hayashi T. corresponding author)

[学会発表] (計30件)

① Invited Speaker: Qian X, Freeman GJ, Tagawa Y-I, Hayashi T. The ICOS-ligand B7-H2, expressed on human type II alveolar epithelial cells, plays a role in the pulmonary host defense system. The Fifth Bizan Immunology Symposium at University of Tokushima. Immunology Program at the University of Tokushima (IPUT) March 03-04, 2016, Tokushima, Japan. (シンポジウム講演)(国際シンポジウム) Young Investigator Award

② Invited Speaker: Hayashi T., Nakamura-Yanagidaira T, Hirano T, Murata T. Regenerative effect of Calcineurin inhibitor, Tacrolimus on Optic neuropathy. Session 2-3: Cellular Reprogramming. World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell-2015. November 18-20, 2015. Shanghai, China. シンポジウム(国際会議)

③ Invited Speaker: Hayashi T., Young R.A. Preventive effect of ascorbic acid against Tat-dependent HIV-1 replication. 19th International Conference of FFC and 7th International Symposium of ASFFBC, Functional and Medical Foods, Bioactive Compounds and Biomarkers: Longevity and Quality of Life. November 17-18, 2015, Kobe, Japan. シンポジウム(国際会議)

④ Invited Speaker: Hayashi T., Horiuchi A, Shiozawa T, Ishiko O, Yaegashi N., Tonegawa S, Konishi I. Potential roles of LMP2 and Caveolin 1 define new targets for uterine leiomyosarcoma therapy. FACO Internal Workshop, 3rd International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology (FACO). October 29-30, 2015, Kyoto, Japan. シンポジウム(国際会議)

⑤ Invited Speaker: Hayashi T., Horiuchi A, Shiozawa T, Ishiko O, Yaegashi N., Tonegawa S, Konishi I. Potential role of LMP2 as negative regulator defines new targets for uterine leiomyosarcoma therapy. 5th World Congress on Cancer Research. September 28-30, 2015, Atlanta, USA. シンポジウム(国際会議)

[図書] (計01件)

① 林 琢磨, 堀内 晶子, 塩沢 丹里, 石河 修, 八重樫 伸生, 小西 郁生: 子宮平滑筋肉腫: 造腫瘍化と老化 日本婦人科腫瘍学会誌. 33(2), 161-170. 2015.

[その他]

ホームページ等
<http://www.shinshu-u.ac.jp/graduate/medicine/i-topics/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 琢磨 (HAYASHI, Takuma)
信州大学・学術研究院医学系・准教授
研究者番号: 60359726

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

八重樫 伸生 (YAEGASHI, Nobuo)
東北大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 00241597

小西 郁生 (KONISHI, Ikuo)
京都大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 90192062