

平成22年 4月15日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19591921
 研究課題名(和文) メタボリックシンドロームと子宮内膜癌：PPAR γ リガンドによる内分泌治療の有効性
 研究課題名(英文) Metabolic syndrome and endometrial cancer- PPAR γ ligands as useful drug candidates for endocrine treatment -
 研究代表者
 伊藤 潔 (ITO KIYOSHI)
 東北大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：70241594

研究成果の概要(和文)：メタボリックシンドロームの観点からの検証は、子宮内膜癌発症危険群の選別に有用である。またメタボリックシンドローム治療薬のPPAR γ の活性化剤およびPPAR γ と2量体を形成するレチノイド受容体の活性化剤は、内膜癌の内分泌治療薬として有用な可能性がある。また内膜癌局所での癌-間質相互作用において、アロマターゼは組織内でのエストロゲン活性の亢進に強く関与していた。アロマターゼ阻害剤は、アロマターゼ活性がある症例では治療薬として有効であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The inspection from the viewpoint of metabolic syndrome is useful for the sorting of the endometrial cancer risk. In addition, PPAR γ ligands, known as the metabolic syndrome therapeutic drugs, and the agonists of retinoid receptors forming heterodimerization with PPAR, should be important drug candidates for endocrine treatment of endometrial cancer. On the other hand, we indicated aromatase played a very important role in the local biosynthesis of estrogen in human endometrial cancer through tumor-stromal cell interactions. Therefore, aromatase inhibitors should be useful drugs especially for patients with endometrial cancers, which have aromatase activities.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：婦人科学

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：Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)、子宮内膜癌、メタボリックシンドローム、PPAR活性化剤、アロマターゼ、レチノイド、癌-間質相互作用、コーヒー

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜癌はエストロゲン依存性腫瘍であり、またメタボリックシンドロームの構成

要因は同時に全て子宮内膜癌の危険因子とされている。一方、Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)

は脂肪分解に関与する蛋白として単離された核内オーファンレセプターであり、そのうちでもPPAR γ は脂肪細胞分化、インスリン抵抗性に関連するとされ、レチノイド受容体と2量体を形成してPPAR応答領域に結合し、機能する。PPAR γ の外因性リガンド薬剤は糖尿病などの治療薬として使用されている。すなわち、メタボリックシンドロームとしてPPAR γ 活性剤で治療される対象群は、同時に子宮内膜癌発症の高危険群でもある。しかし、メタボリックシンドロームと子宮内膜癌発症との関連性は、近年次第に明らかになりつつあるも、詳細は不明であった。また、PPAR γ やレチノイド受容体およびそれに関連する性ステロイド受容体・代謝酵素群の子宮内膜での発現動態や、PPAR γ 活性剤あるいはその関連薬剤が子宮内膜に与える影響も不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、エストロゲン依存性腫瘍である子宮内膜癌変でのPPAR γ あるいはそれに関連する性ステロイド受容体・代謝酵素群、レチノイド受容体などの発現動態を解析するとともに、メタボリックシンドロームと子宮内膜癌発症との関連の詳細な分析、およびPPAR γ 活性剤やレチノイド、アロマターゼ阻害剤などの投与による抗腫瘍効果とその臨床応用への可能性を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 同意を得て採取されたヒト子宮内膜癌及び正常子宮内膜検体を用い、マイクロダイセクション法によって癌細胞や腺管上皮と、周囲の細胞を厳密に分離した上で、アディポサイトカインおよびメタボリックシンドローム関連遺伝子の発現状況につき、大規模マイクロアレイを用いた網羅的なトランスクリプトーム解析を行い、さらにリアルタイムRT-PCRで確認した。

(2) ヒト正常子宮内膜、子宮内膜癌変でのPPAR γ 、レチノイド受容体および性ステロイドホルモン関連代謝酵素や、ホルモンレセプターの発現の局在に関する検索を免疫染色やRT-PCRによって行った。また、子宮内膜癌培養細胞を用いて、PPAR γ 活性剤やレチ

ノイド受容体アゴニスト投与による抗腫瘍効果をMTTアッセイなどにより確認した。

(3) 子宮内膜癌局所における微小環境中でのエストロゲン受容体活性化に関わる癌-間質相互作用を探索する目的で、間質細胞の癌細胞に与えるエストロゲンシグナルの作用機序を、ERE(estrogen responsive element)-GFP遺伝子を安定導入した癌培養細胞をレポーター細胞として用い、検討した。アロマターゼ阻害剤の添加による作用機序への影響も確認した。

(4) 子宮内膜癌局所微小環境中でのエストロゲン合成・代謝に関わる癌-間質相互作用を探索する目的で、最近開発された微量測定法(LC/MS/MS法: Liquid

chromatography-tandem mass spectrometry)により、癌組織の微小環境をシュミレートした共培養システム内での、癌培養細胞およびヒト子宮内膜癌周囲間質細胞それぞれの代謝酵素活性、エストロゲン濃度の測定を行い検討した。アロマターゼ阻害剤の添加による細胞増殖への影響もMTTアッセイにより確認した。

(5) 子宮内膜癌の発症危険因子に関し、日本人を対象とした、メタボリックシンドロームとの関連という視点からの疫学的な研究は、なされていない。そこで子宮内膜癌の中でもエストロゲン依存性に発症すると考えられている類内膜腺癌症例(163例)と、症例の研究登録時の年齢および居住地域をマッチングさせた対照(312名)を比較した症例対照研究を行い、メタボリックシンドローム構成関連因子である肥満、高血圧、糖尿病とその合併形態が、どのように子宮内膜癌発症の危険に関わっているか、に焦点を当てた検討を行った。

4. 研究成果

(1) 子宮内膜癌及び正常子宮内膜検体を用いた検討で、マイクロアレイとRT-PCRの結果が一致し、正常内膜に比較して子宮内膜癌で有意な発現の減弱が認められたアディポサイトカインおよびメタボリックシンドローム関連遺伝子は、Acyl-CoA synthetase, insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) 7, Leptin receptoe, TNF

α -induced protein 1, PPAR γ であることが判明した。

(2) PPAR γ の発現は、正常内膜(分泌期)では74%、子宮内膜増殖症では84%の症例で見られたのに対し子宮内膜癌では65%のみに認められ、有意に発現が減弱していることを確認した。これらの発現と性ステロイド代謝酵素及び性ステロイドレセプターの発現には、相関は認められなかった。また、PPAR γ と2量体を形成するレチノイド受容体に着目した研究を行った。正常子宮内膜、子宮内膜病変での発現の局在に関する検索では、子宮内膜癌では子宮内膜増殖症に比較してRAR (Retinoic acid receptor) β の発現が有意に低下していることが明らかとなった。子宮内膜癌で、レチノイド受容体の発現と、PPAR γ の発現および臨床病理学的因子との間には関連は見られなかった。また、子宮内膜癌培養細胞を用いた検討で、PPAR γ のリガンド投与により細胞増殖が有意に抑制されることを確認するとともに、レチノイド受容体アゴニスト投与で細胞増殖が有意に抑制され、さらにRAR β の発現が誘導されていることがわかった。すなわち、PPAR γ のリガンドおよびレチノイド受容体アゴニストの、治療薬としての応用可能性が示された。

(3) 子宮内膜病変局所でPPAR γ 発現動態と密接な関連を持つと考えられる脂肪間質細胞に着目した研究を行った。レポーター細胞およびヒト子宮内膜癌組織の癌周囲脂肪間質を用いた検討により、腫瘍周辺の脂肪間質細胞で産生されたエストロゲンは、癌細胞に到達してエストロゲン活性に関与していることが明らかとなった。またこのエストロゲン活性はアロマターゼ阻害剤の投与で有意に減弱したことから、アロマターゼを介した作用であると考えられた。

(4) 間質細胞に着目した研究をさらにすすめ、子宮内膜癌局所における微小環境中でのエストロゲン合成・代謝に関わる癌-間質相互作用を、癌組織の微小環境をシュミレートした共培養システムを用いて行った。アロマターゼ活性が、共培養下では単独培養に比して、間質細胞で有意に亢進するのみならず、癌細胞においても同じく有意に亢進していることを明らかとした。また、共培養下では

単独培養に比して、エストロゲン活性も有意に亢進していた。このことより、アロマターゼに関する癌細胞と間質細胞の作用は、一方的なものではなく、相互作用であり、両者でアロマターゼ活性が亢進して組織全体でのエストロゲン活性の亢進が起こっていることが示唆された。また共培養下での細胞増殖はアロマターゼ阻害剤の投与で有意に抑制されたことから、アロマターゼ阻害剤は、アロマターゼ活性がある症例では治療薬として有効である可能性が示された。

(5) メタボリックシンドローム構成関連因子と子宮内膜癌発症の関連を検討した。多変量解析では、肥満は3.54倍、糖尿病既往歴は5.08倍、高血圧既往歴は2.20倍であり、いずれも独立した内膜癌の発症危険因子であった。肥満、糖尿病、高血圧のどれかをいくつ合併しているかと子宮内膜癌発症危険率の比較では、何も合併していない症例に比べて、どれか一つをもっているものの発症危険率は2.61倍、どれか二つ以上を合併しているものの発症危険率は7.60倍であった。肥満、糖尿病、高血圧は単独でもリスク因子として重要であるが、複数を合併した場合は、さらに危険率が上昇することが、本邦では初めて明らかとなった。メタボリックシンドロームの観点からの検証は、子宮内膜癌発症危険群の選別に有用な可能性が高い。今後、子宮体がん検診での効率的なハイリスク群の選定、精度向上にもつながると考えられた。また食品及び嗜好品の摂取頻度に関する検討で、コーヒー摂取頻度が増すほど子宮内膜癌の発症リスクが有意に低下するという量-反応関係が示され、コーヒー摂取により、子宮内膜癌の発症リスクを予防できる可能性が示された。最近、コーヒー摂取が糖尿病の罹患リスクを有意に減少させるとの報告がなされており(van DAM RM et al. JAMA 2005)、この結果はコーヒー摂取がPPAR、さらには内膜癌発症に及ぼす影響という観点からも興味深いと考えられる。また緑茶に関しても同様に有意な量-反応関係が示され、子宮内膜癌の発症リスクを軽減できる可能性が示された。

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 23 件)

- 1) Hiroki E, Akahira J, Suzuki F, Nagase S, Ito K, Suzuki T, Sasano H, Yaegashi N. Changes in microRNA expression levels correlate with clinicopathological features and prognoses in endometrial serous adenocarcinomas. *Cancer Sci.* 101:241-9. (2010) 査読有
- 2) 伊藤 潔、八重樫伸生. メタボリック症候群と子宮内膜癌, *医学のあゆみ* 232 :1229-1230. (2010) 査読無
- 3) Takahashi-Shiga N, Utsunomiya H, Miki Y, Nagase S, Kobayashi R, Matsumoto M, Niikura H, Ito K, Yaegashi N. Local Biosynthesis of Estrogen in Human Endometrial Carcinoma through Tumor-Stromal Cell Interactions. *Clin Cancer Res.* 15:6028-34. (2009) 査読有
- 4) Kakuta Y, Nakaya N, Nagase S, Fujita M, Koizumi T, Okamura C, Niikura H, Ohmori K, Kuriyama S, Tase T, Ito K, Minami Y, Yaegashi N, Tsuji I. Case-control study of green tea consumption and the risk of endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Cancer Causes Control.* 20:617-24. (2009) 査読有
- 5) 赤平純一、伊藤 潔、八重樫伸生、笹野公伸. 婦人科悪性腫瘍とエストロゲン *産婦人科治療* 98 :545-549. (2009) 査読無
- 6) 笹野公伸、赤平純一、鈴木 貴、伊藤 潔. 乳がんと子宮内膜癌間のエストロゲン作用の差異—似て異なる作用機序 *産科と婦人科* 76 :154-158. (2009) 査読無
- 7) 牧野浩充、伊藤 潔、八重樫伸生. 子宮体がん検診の対象者 *臨床婦人科産科* 63 :1157-1163. (2009) 査読無
- 8) Yoshinaga K, Ito K, Moriya T, Nagase S, Takano T, Niikura H, Yaegashi N, Sato Y. Expression of vasohibin as a novel endothelium-derived angiogenesis inhibitor, in endometrial cancer *Cancer Sci* 99:914-9. (2008) 査読有
- 9) Tanabe K, Utsunomiya H, Tamura M, Niikura H, Yoshinaga K, Takano T, Suzuki T, Nagase S, Ito K, Matsumoto M, Hayashi S, Yaegashi N. The expression of retinoic acid receptors in human endometrial carcinoma. *Cancer Sci.* 99:267-71. (2008) 査読有
- 10) Koizumi T, Nakaya N, Okamura C, Sato Y, Shimazu T, Nagase S, Niikura H, Kuriyama S, Tase T, Ito K, Tsubono Y, Okamura K, Yaegashi N, Tsuji I. Case-control study of coffee consumption and the risk of endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Eur J Cancer Prev.* 17:358-63. (2008) 査読有
- 11) Matsumoto M, Yamaguchi Y, Seino Y, Hatakeyama A, Takei H, Niikura H, Ito K, Suzuki T, Sasano H, Yaegashi N, Hayashi S. Estrogen signaling ability in human endometrial cancer through the tumor-stromal interaction. *Endocr Relat Cancer.* 15:451-63. (2008) 査読有
- 12) Fujita M, Tase T, Kakugawa Y, Hoshi S, Nishino Y, Nagase S, Ito K, Niikura H, Yaegashi N, Minami Y. Smoking, earlier menarche and low parity as independent risk factors for gynecologic cancers in Japanese: a case-control study. *Tohoku J Exp Med.* 216:297-307. (2008) 査読有
- 13) Tanabe K, Matsumoto M, Ikematsu S, Nagase S, Hatakeyama A, Takano T, Niikura H, Kadomatsu K, Ito K, Hayashi S, Yaegashi N. Midkine and its clinical significance in endometrial carcinoma. *Cancer Sci.* 99:1125-30. (2008) 査読有
- 14) 伊藤 潔 子宮がんに関わる最近の話題—コーヒー摂取と子宮体がん発症リスクなど— *宮城県対がん協会報「ともしび」* 127 : 2-6 (2008) 査読無
- 15) 伊藤 潔、宇都宮裕貴、笹野公伸、八重樫伸生. 婦人科悪性腫瘍とエストロゲン特集:ホルモン療法—最近の話題— *産婦人科治療* 96 :193-197. (2008) 査読無
- 16) 伊藤 潔、宇都宮裕貴、笹野公伸、八重樫伸生. 子宮体癌とエストロゲン 特集:子宮癌 Up to Date *産婦人科治療* 97 :244-248. (2008) 査読無
- 17) 伊藤 潔 婦人科悪性腫瘍とエストロゲン *日本産科婦人科学会雑誌* 60: 1611-1617. (2008) 査読無
- 18) Ito K. Hormone replacement therapy and cancers: the biological roles of

estrogen and progesterone in tumorigenesis are different between the endometrium and breast. *Tohoku J Exp Med.* 212:1-12. (2007) 査読有

- 19) Ito K, Utsunomiya H, Yaegashi N, Sasano H. Biological roles of estrogen and progesterone in human endometrial carcinoma - new developments in potential endocrine therapy for endometrial cancer - *Endocr J.* 54:667-679 (2007) 査読有
- 20) 伊藤 潔, 笹野公伸, 八重樫伸生. エストロゲン, 抗エストロゲン関連薬剤と子宮内膜癌産婦人科の実際 56:1173-1180 (2007) 査読無
- 21) 笹野公伸, 赤平純一, 鈴木 貴, 伊藤 潔. エストロゲン依存性腫瘍の新たな展開 -EndocrinologyからIntracrinologyへ-産婦人科の実際 56:1135-1140 (2007) 査読無
- 22) 田村充利, 小泉俊光, 太田恭子, 伊藤 潔, 八重樫伸生. 子宮体癌と生活習慣病産科と婦人科 74 :457-464. (2007) 査読無
- 23) 田村充利, 伊藤 潔, 八重樫伸生. メタボリックシンドロームと子宮内膜癌 内分泌・糖尿病科 24: 491-498 (2007) 査読無

[学会発表] (計7件)

- 1) Ito. K Biological roles of estrogen and progesterone in gynecological cancer (Session: Gynaecology) *The XXIst Asian and Oceanic Congress of Obstetrics and Gynaecology (AOCOG)* (招請講演) Auckland, NZ (2009年3月28日)
- 2) 伊藤 潔 婦人科悪性腫瘍とエストロゲンの関わり (特別講演) 第23回日本臨床細胞学会宮城県支部学術集会 (宮城) (2009年2月1日)
- 3) 伊藤 潔, 高橋尚美, 松本光代, 宇都宮裕貴, 笹野公伸, 八重樫伸生. 子宮の内臓癌での局所性ステロイド合成代謝経路に着目したトランスレーショナルリサーチの展開. (シンポジウム) 第10回ホルモンと癌研究会 (仙台) (2009年8月1日)
- 4) 伊藤 潔 婦人科悪性腫瘍とエストロゲン

(教育講演) 第60回日本産科婦人科学会 (横浜) (2008年4月13日)

- 5) 伊藤 潔 癌とホルモン: 内分泌専門医が知っておくべき乳癌、前立腺癌、婦人科腫瘍患者の内分泌療法: 婦人科腫瘍 (サテライトシンポジウム) 第81回日本内分泌学会 (青森) (2008年5月16日)
- 6) 伊藤 潔 子宮体癌の早期発見・治療に関する現況と展望 (特別講演) 第267回青森県臨床産婦人科医会 (八戸) (2007年9月15日)
- 7) 伊藤 潔 子宮体癌の早期発見を目指してー診断法の現況と展望ー (教育講演) 第46回日本臨床細胞学会秋期大会 (仙台) (2007年12月1日)

[図書] (計2件)

- 1) Hayashi S, Suzuki T, Ito K, Matsumoto M, Sasano H, Yaegashi N. Biosynthesis and action of estrogen in gynecological cancers. *Reproductive oncology, Research Signpost, Kerala, India*, ch4: 93-120. (2007)
- 2) 笹野公伸, 伊藤 潔. 子宮内膜癌におけるエストロゲン受容体. 子宮腫瘍病理アトラス (石倉浩, 本山悌一, 森谷卓也, 手島伸一編集) 文光堂, 東京 206. (2007) (分担執筆)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他] なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 潔 (ITO KIYOSHI)
東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 70241594

(2) 研究分担者

岡本 聡 (OKAMOTO SATOSHI)
東北大学・病院・臨床検査技師
研究者番号: 40420020
阿部 圭子 (ABE KEIKO)
東北大学・未来医工学治療開発センター・臨床検査技師
研究者番号: 30444003
鈴木 史彦 (SUZUKI FUMIHIKO)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 20400343

(3)連携研究者 なし