

平成 22 年 3 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591925

研究課題名（和文） エストロゲン依存性子宮体癌発癌過程における PAX2 プロモーターメチル化の関与

研究課題名（英文） Study of PAX2 promoter methylation status in the carcinogenesis of estrogen dependent endometrial cancer

研究代表者

三橋 暁 (MITSUHASHI AKIRA)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究成果の概要：

近年、胎生期の胚の細胞分化や組織発達に関与する PAX ファミリーの PAX2 が、通常成人では不活化しているはずが、子宮体部癌で高発現し、増殖に関与していることが明らかになった。しかし一方でミューラー管由来組織での PAX2 の発現が報告され、正常組織でも発現していることが明らかとなっている。免疫染色やウエスタンブロット法での解析より、正常子宮内膜での発現を認めることから、今回の検討では PAX2 の関与は確認できなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
20 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：婦人科腫瘍学

## 1. 研究開始当初の背景

タイプ1の子宮体部癌は乳癌と同様エストロゲン依存性の癌で、その発癌過程におけるエストロゲンや選択的エストロゲン受

容体モジュレーター (SERM) であるタモキシフェンの関与は分子生物学的、疫学的研究より証明されている。詳細はいまだ明らかではないが、タイプ1の子宮体部癌の

発癌過程には、DNA ミスマッチ修復遺伝子である hMLH1, hMSH2 の異常、特に MLH1 プロモーターのメチル化による不活性化が起こり、それに伴う PTEN の変異や種々の遺伝子異常が蓄積することが原因と推測されている。これらの異常が蓄積することで子宮内膜増殖症から、子宮内膜異型増殖症、子宮体部癌と進展するとされる。また近年、胎生期の胚の細胞分化や組織発達に関与する PAX ファミリーの PAX2 が、通常成人では不活化しているはずが、子宮体部癌で高発現し、増殖に関与していることが明らかになった。しかし前癌病変での PAX2 の発現は確認されておらず、PAX2 が発癌過程の初期段階に関与するのか、癌の発生後の増殖、進展に関与するのかは明らかにはされていない。

一方近年種々の SERM が開発され、すでに乳癌、骨粗鬆症の治療に臨床応用されている。これらはタモキシフェンと異なり長期投与による子宮に対する作用はほとんどないとされるが、発癌への影響は明らかにされていない。また乳癌ではアロマトラーゼ阻害剤が乳癌の治療で有用性が証明されているが、子宮体部癌への効果は明らかで

はない。

PAX2 の活性化はプロモーター領域の低メチル化が原因であるが、エストロゲンやタモキシフェン暴露が PAX2 を活性化させる可能性が示唆されるがその機序は不明である。癌化の初期段階から PAX2 の異常があるとすれば、他の SERM やアロマトラーゼ阻害剤がこの低メチル化に関与する可能性も示唆され検討する必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、子宮内膜癌発癌過程における PAX2 の関与を明らかにし、エストロゲン依存性のタイプ 1 子宮体癌の発癌過程において、子宮内膜増殖症から子宮体部癌に至るまでの過程で、PAX2 がどのように関与しているかを検討する。臨床材料を用いて PAX2 の発現の亢進する病期、程度を検索する。

また、基礎的には子宮体癌発癌モデル動物を用いて、発癌モデルのエピジェネティックな異常を検索すると共に、PAX2 やその他の遺伝子異常の発生時期を検索、また種々の SERM やアロマトラーゼ阻害剤で癌化が抑制されるかどうかを検討する。また

培養細胞株を用いて種々の SERM やアロ  
マターゼ阻害剤が PAX2 を誘導するかどうか  
かを検討する

### 3. 研究の方法

1) 臨床検体における PAX2 の発現の測定  
患者から採取した子宮内膜増殖症、子宮内  
膜異型増殖症、子宮体部癌のパラフィン包  
埋切片を用いて免疫染色を行い、PAX2 の  
発現を確認する。

2) 患者から採取した子宮内膜増殖症、子  
宮内膜異型増殖症、子宮体部癌組織中の  
PAX2 タンパク質の発現をウエスタンブ  
ロット法で確認

3) DNA, RNA を抽出し、DNA を bisulfite  
処理をしメチル化状態を解析するとともに、  
RNA から、cDNA を合成し RT-PCR を  
行い PAX2m RNA の定量 PCR を行う。

### 4. 研究成果

1) 蛋白レベルでのPAX2の発現を確認するた  
め、正常子宮内膜15例をコントロールとして、  
子宮体癌25  
例に対し、rabbit anti-PAX2 polyclonal抗体  
を用いて免疫組織学検討を行った。免疫組織  
学的検討では正常子宮内膜においてもPAX2の  
発現を認めた。PAX2はMuller管由来組織では

陽性で、免疫染色では発現量は区別できな  
かった。

また、患者から採取した子宮内膜増殖症、子宮  
内膜異型増殖症、子宮体部癌組織中のPAX2タ  
ンパク質の発現をウエスタンブロット法で確認  
したが、正常子宮内膜でも発現を認めた。

2) 正常子宮内膜組織15例、子宮内膜異型増殖症5例、子  
宮体部15例の組織を採取し、DNA, RNAを抽出し、DNAを  
bisulfite処理をしPAX2のプロモーター領域のメチル化  
状態を解析する予定も、蛋白レベルでの発現の差が認め  
られなかったため、メチル化の解析は断念した。できな  
今回の検討では、子宮体癌発癌過程におけるPAX2の関与  
は解明できなかった。

### 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)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○ 取得状況（計 0 件）

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三橋 暁 (MITSUHASHI AKIRA)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：40302541

### (2) 研究分担者

生水 真紀夫 (SHOZU MAKIO)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：30226302

碓井 宏和 (USUI HIROKAZU)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：90375634

### (3) 連携研究者