

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460429

研究課題名(和文) 加齢に伴う大腸癌病態メカニズム変化とエストロゲンの関係についての包括的研究

研究課題名(英文) Study on the pathological role of estrogens in colorectal cancer.

研究代表者

本間 尚子 (HONMA, Naoko)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：70321875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌の特性は、年齢、性、腫瘍局在部位により異なる。またエストロゲンの大腸癌での役割については抑制説、促進説とも存在し、コンセンサスは得られていない状況にある。エストロゲンの大腸癌における役割が、年齢、性、部位により異なる可能性がある。そこで、閉経後女性結腸癌に主眼を置き、手術検体について年齢、部位を考慮した統合的解析を行った。70歳以上か未満か、右側結腸癌か左側結腸癌かにより、癌部・非癌部でのエストロゲン濃度やエストロゲン受容体発現の関係性に明らかな違いがみられた。大腸癌の病態生物学上、エストロゲンの作用方向が、年齢・部位により異なることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Characteristics of colorectal cancer (CRC) are affected by aging, sex, and locus. Estrogens have been suggested to play a suppressive role in CRC, though controversies exist. We focused on postmenopausal colon cancers, and comprehensively examined estrogen-related factors using surgically resected materials. The relation of estrogen concentration or estrogen receptor-beta expression in cancerous tissue vs. non-cancerous tissue was distinctly different according to patients' age (≥ 70 y/o or < 70 y/o) and locus (left-sided or right-sided), suggesting that pathological role of estrogens in colon cancer is different according to patients' age and tumor locus.

研究分野：人体病理

キーワード：大腸癌 エストロゲン 女性 年齢 閉経後

1. 研究開始当初の背景

社会の高齢化、食生活の欧米化等により、大腸癌は近年、我が国で急増している。特に女性における死亡数は全癌のうち第1位で、他臓器に比し相対的に女性に多い癌である。大腸癌の予防・早期発見治療は高齢化社会における医療費軽減という観点からも極めて重要である。

大腸癌に対してエストロゲンは抑制的に作用するとの報告が多いが、促進的に働くとの報告も少なからずある。また大腸粘膜におけるエストロゲン受容体(ER)として重要なER-βの発現は、大腸癌の発生・進行に伴い減少するとの報告がある一方、高齢者に多いmicrosatellite instability (MSI) 陽性癌ではER-βの高発現が報告されるなど、ER-βの意義も不明である。また近年、血中の不活化型ホルモンが、標的臓器局所で活性化され作用するというintracrinologyの概念が発達している(図1)。卵巢機能が低下した老年期の性ホルモン動態を考える上では欠かすことのできない概念である。大腸癌におけるエストロゲンの作用が、抑制的か促進的か、明らかにするには、局所でのホルモン代謝および濃度の解析が不可欠であるが、組織を用いた研究は極めて少ない。

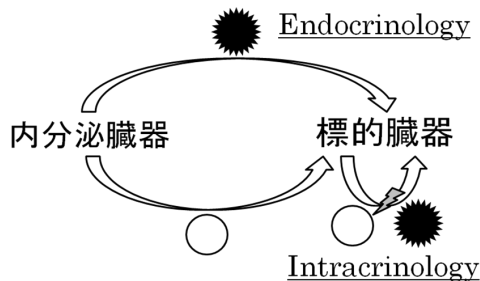


図1. Endocrinology と intracrinology

ER-βの代表的遺伝子多型である ESR2 CA repeat 多型と大腸癌の関係を、高齢者剖検例について調べたところ、短鎖Sを有する女性に高率に結腸癌が認められた(図2)。一方、75歳未満の外科的大腸癌症例 対照群について調べたところ、閉経後の女性では長鎖Lが結腸癌のリスク因子であり(図3)、年齢による閉経後結腸癌リスクの反転現象が明らかとなった。閉経前女性、男性、直腸癌では、この多型の影響は認められなかった。

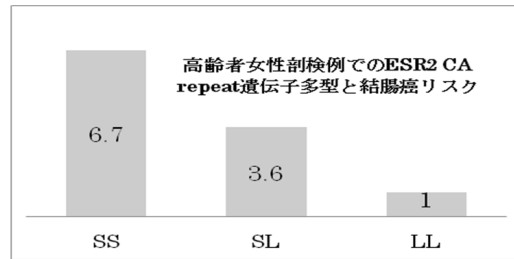


図2. 高齢者女性剖検例での ESR2 CA repeat 遺伝子多型と結腸癌リスク

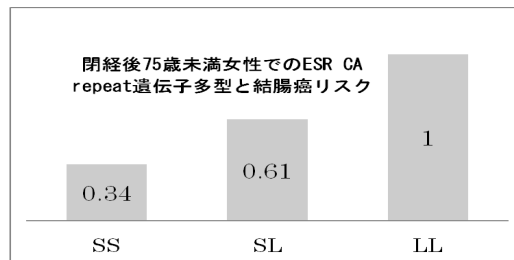


図3. 閉経後75歳未満女性での ESR2 CA repeat 遺伝子多型と結腸癌リスク

一方、大腸癌の発生部位や組織型、MSI 陽性率等は、年齢・性により異なることが知られている。右側結腸発生癌は年齢とともに増加し、特に85歳以上の女性では約半数を占める。また、右側結腸発生癌の男性粘液癌および女性髄様癌にはMSI 陽性癌が多い。

これらを総合的に考えると、大腸癌の病態におけるエストロゲン ER-β系の意義が、年齢、性、局在部位により異なる可能性があるが、それらを考慮しての研究はこれまでほとんどなかった。

2. 研究の目的

本研究では大腸癌手術検体を用い、エストロゲン関連諸因子を、患者の年齢、性、癌局在部位などを考慮して調べた。それにより、エストロゲンと大腸癌の病態メカニズムとの関係を明らかにし、エストロゲンの適切な制御による大腸癌予防・治療の可能性を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象

これまで、ESR2 CA repeat 多型との関係で明瞭な結果が得られているのは、閉経後女性の結腸癌であるため、閉経後女性結腸癌症例117例を最優先の解析対象とした。腫瘍局在部位により右側(回盲部~横行結腸)、左側(下行結腸~S状結腸)にわけ、さらに各々

につき、患者手術時年齢により 70 歳未満、70 歳以上に分類した。癌局在部位と年齢による内訳は、右側 70 歳未満 21 例、右側 70 歳以上 46 例、左側 70 歳未満 23 例、左側 70 歳以上 27 例だった。

(2) 検体

生化学的解析は、大腸癌手術材料から得られた癌部・非癌部組織凍結検体について行った。免疫組織化学には、通常の病理組織診断で用いられたホルマリン固定パラフィン包埋組織(永久標本)を用いた。凍結組織検体、永久標本とも、東京都健康長寿医療センターおよびがん研に保存されているものを用いた。

(3) エストロゲン濃度解析

各種エストロゲンのうち最も強力な代表的存在であるエストラジオール (E2) 濃度を解析した。癌部・非癌部凍結検体をホモジネートし、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法を用いて測定した。測定はあすか製薬メディカル(神奈川県川崎市)にて行った。

(4) ER-β発現

パラフィン包埋ブロックより4μmの薄切標本を作製し、免疫組織化学法に供した。一次抗体には wild type の ER-β (=ER-β1) を認識するモノクローナル抗体 (PPG5/10, DAKO 社) を用い EnVision+ HRP (DAKO 社) にて検出した。

(5) データ統合・統計解析

E2 および ER-β発現を、癌部・非癌部で比較する。癌局在部位(左側か右側か)と手術時患者年齢(70 歳未満か 70 歳以上か)を考慮して統計的解析を行う。

4. 研究成果

(1) エストロゲン濃度

癌局在部位と年齢により分類した各々の群につき、癌部と非癌部での E2 濃度を比較した(図4)。

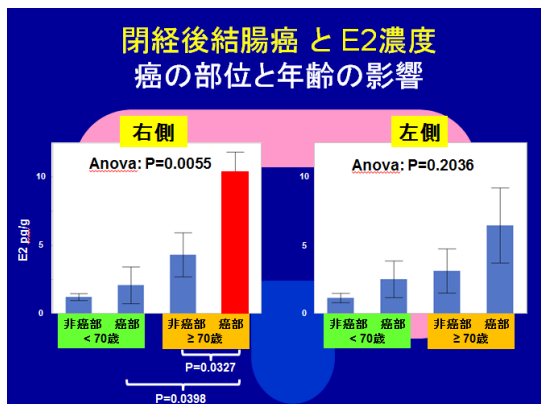


図4. 閉経後結腸癌と E2 濃度 - 癌の部位

と年齢の影響 -

右側

70 歳未満では、癌部・非癌部とも E2 濃度は低く、両者の間に有意差は認められなかった。70 歳以上では、特に癌部の E2 濃度が高く、非癌部および 70 歳未満の癌部との間に有意差がみられた。

左側

年齢によらず、癌部・非癌部の間で E2 濃度に有意差はなかった。年齢による E2 濃度差もなかった。

(2) ER-β発現

エストロゲン濃度同様、癌局在部位、手術時患者年齢により群分けし、各々の群につき、癌部と非癌部での ER-β発現を比較した(図5)。

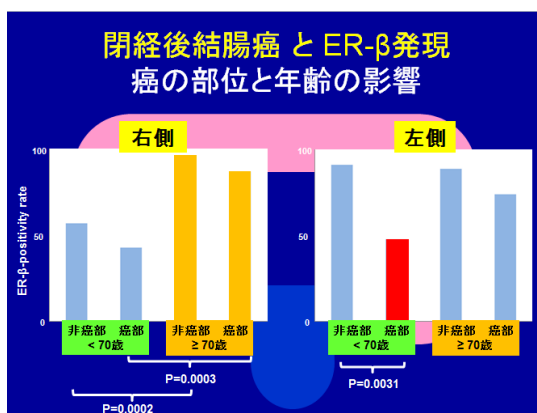


図5. 閉経後結腸癌と ER-β 濃度 - 癌の部位と年齢の影響 -

右側

癌部でも非癌部でも、70 歳以上では 70 歳未満に比し ER-β陽性率が高く、年齢層間で有意差が認められた。

左側

70 歳以上では癌部・非癌部によらず ER-β陽性率が高かったが、70 歳未満の癌部では、非癌部に比し有意に ER-β陽性率が低かった。

(3) 考察

70 歳以上の右側結腸癌では、癌部で E2 濃度が上昇していた。癌部・非癌部とも ER-β陽性率は高く、70 歳以上の右側結腸癌では E2 が促進的に働いていると考えられる。

70 歳未満の左側結腸癌では、癌部で ER-β陽性率が低かった。癌部・非癌部とも E2 濃度は高くなく、70 歳未満の左側結腸癌では E2 - ER-β系機能が十分に働いていないことが示唆される。70 歳未満の左側結腸癌では E2 が抑制的に働いていると考えられる。

閉経後女性の結腸癌では、年齢層、癌局在

部位により、癌に対するエストロゲン作用（促進的か抑制的か）が逆転する可能性を示すものである。これは、MSI 陽性癌は高齢女性右側癌に多い、MSI 陽性癌では ER-β陽性率が高い、ESR2 CA repeat 多型による閉経後女性結腸癌のリスクが年齢群により異なる、といった過去の報告とも矛盾しないものである。

大腸癌とエストロゲンの関係についての報告は多いが、癌に促進的に働くか抑制的に働くか、十分なコンセンサスは得られていない。その背景には、患者の性や年齢、癌の局在部位などを考慮した研究が極めて少ないことがあると考え本研究を着想したが、予想通り、年齢、癌局在部位により、エストロゲンの作用の方向性が異なることを支持する結果が得られた。エストロゲン状況は、性・年齢により大きく異なる。臨床病理学的状況を考慮した、詳細かつ大規模な研究が必要と考えられる。

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4件)

(1) 本間尚子、老年期女性の大腸癌・乳癌とエストロゲン。東邦医学会雑誌。査読無。63:31-34:2016.

(2) Naoko Honma, Takayuki Hosoi, Tomio Arai, Kaiyo Takubo. Estrogen and cancers of the colorectum, breast, and lung in postmenopausal women. *Pathol Int*. 査読有。65:451-459:2015.
DOI: 10.1111/pin.12326

(3) 本間尚子, 新井富生, 田久保海誉. エストロゲンと老年期女性疾患。月刊細胞。査読無。47:43-46:2015.

(4) 本間尚子, 新井富生, 村松正明. 大腸癌発生・進展への女性ホルモンの関与 in 特集 大腸癌の最新治療：治療に向けた最先端研究). *日本臨床*. 査読無。72:49-55:2014.

〔学会発表〕(計1件)

(1) Naoko Honma, Tetuo Mikami, Yuri Fukasawa, Tomio Arai, Hiroshi Kawachi, Noriko Yamamoto, Yuichi Ishikawa. Difference of estrogenic role in colon cancer according to age and locus among postmenopausal women. 第75回日本癌学会学術総会。2016年10月7日。パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本間尚子 (HONMA, Naoko)
東邦大学・医学部・准教授
研究者番号：70321875

(2) 研究分担者なし

(3) 連携研究者

新井富生 (ARAI, Tomio)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員
研究者番号：20232019

山本智理子 (YAMAMOTO, Noriko)
公益財団法人がん研究会・がん研究所 病理部・主任研究員
研究者番号：10280629

石川雄一 (ISHIKAWA, Yuichi)
公益財団法人がん研究会・がん研究所 病理部・部長
研究者番号：80222975

村松正明 (MURAMATSU, Masaaki)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：50230008

原田信広 (HARADA, Nobuhiro)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号：00189705