

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10728

研究課題名(和文) EMT関連遺伝子を標的とした新規分子標的薬の開発

研究課題名(英文) Development of new molecular targeted drugs targeting EMT-related genes in endometrial cancer

研究代表者

片岡 史夫 (Kataoka, Fumio)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：40306824

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：EMT関連遺伝子群でクラスタリングを行ったところ、癌肉腫は子宮体癌よりも肉腫と類似性を認めた。また、癌肉腫の癌部および肉腫部でEMT関連遺伝子群の発現を比較したところ、肉腫部でZeb、Twist、SnailなどのEMT誘導転写因子およびそのパスウェイに関与する遺伝子群の高発現を確認した。癌肉腫の癌部においては、子宮体癌と比較してリン酸化SMAD2/3が有意に高発現を示した。一方、癌肉腫の癌部および肉腫部におけるリン酸化SMAD2/3の発現には有意差は認めなかった。子宮体部癌肉腫で活性化されているTGFシグナル伝達系のEMTへの寄与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Uterine carcinosarcoma is reported to undergo epithelial to mesenchymal transition (EMT). The gene expression profiles of uterine carcinosarcoma, endometrial cancer, and uterine sarcoma were compared and evaluated the role of EMT and chromosomal aberrations in uterine carcinosarcoma tumor formation. The expression of 39 EMT-related genes and evaluated TGF-beta signaling by phospho-SMAD2/3 (p-SMAD2/3) staining were examined. Acquired markers of EMT were upregulated in uterine carcinosarcoma.

Based on the expression profile, uterine carcinosarcoma resembles uterine sarcoma rather than endometrial cancer. Immunohistochemistry showed that carcinomatous region of uterine carcinosarcoma have higher expression of p-SMAD2/3 than endometrial cancer. TGF-beta signaling is activated in uterine carcinosarcoma, which suggest that this may contribute to high expression of TGF-beta and thereby EMT phenotype of uterine carcinosarcoma.

研究分野：婦人科腫瘍学

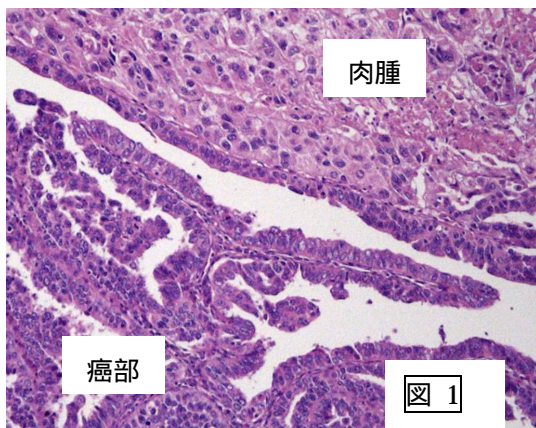
キーワード：子宮体部癌肉腫 EMT 分子標的

1. 研究開始当初の背景

癌において EMT は細胞間結合の消失、上皮系マーカーの発現低下 (cytokeratin)、間葉系マーカーの発現上昇 (vimentin, smooth muscle actin) に伴い、細胞形態が紡錘形に変化し、浸潤・転移能を獲得することとされている。EMT を誘導する転写因子としては SNAI1、SNAI2(SLUG)、ZEB1、ZEB2(SIP1)、TWIST、TCF3(E47)が知られており、それぞれの発現が予後因子もしくは転移の頻度と関連していることが示されている。例えば、SNAI1、SNAI2 の発現は乳癌において転移・再発と関連している (Elloul S, *Cancer* 2005, Moody S, *Cancer Cell* 2005)。

しかし、実際の癌組織の病理標本において EMT の部分を肉眼的に特定できることはほとんど無く、ヒトの癌における EMT の存在自体を否定する意見もある (Tarin D, *Cancer Res* 2005)。

癌肉腫 (図 1) は稀な悪性度の高い腫瘍であるが、癌部分と肉腫部分を併せ持つユニークな腫瘍である。p53 mutation などを用いた分子生物学的解析から、モノクローナル起源であることが示されており (Lien HC, *J Pathol* 2004)、また CGH 解析にて癌に類似し (Schipf A, *Virchows Arch* 2008)、肉腫部分が cytokeratin などの上皮性マーカーを発現している (Carter MR, *Am J Surg Pathol* 2006) ことから癌部分が起源であると推察されている。



2. 研究の目的

Epithelial-mesenchymal transition: EMT が癌の進展に重要であることは数多くの研究が立証している。しかし、EMT のエビデンスの多くは生理的条件下で導きだされたものではなく懐疑的な見方もある。子宮体部癌肉腫は、同一腫瘍内に癌部と肉腫部が存在し、高転移能を有するが、その肉腫部分は癌部分の EMT と推察されている。すなわち、臨床検体で肉眼的に EMT が確認できる貴重な腫瘍であり、肉腫部を解析することで生理的条件を反映した EMT のモデルになりうる。本研究の目的は、癌肉腫を EMT のモデルととらえ、(1)新規 EMT 関連遺伝子を発見する、

(2)体癌の新規バイオマーカーを発見する、(3)EMT を制御できる新規分子標的薬をスクリーニングする、ことである。

3. 研究の方法

(1) 子宮体部癌肉腫、子宮体癌および子宮肉腫を対象に網羅的発現解析を実施し、EMT 関連遺伝子群でクラスタリングを行い発現パターンを解析する。発現パターンの類似した遺伝子は機能的にも類似しているという機能ゲノミクスのドグマを用いて、その群から抽出する。癌肉腫と体癌を比較して癌肉腫に高発現している遺伝子を抽出する。

(2) 抽出した遺伝子の機能解析を行う。癌肉腫細胞株、我々が樹立した体癌高転移株および既知の体癌細胞株を使用し、増殖能、浸潤能への関与を調べる。また、当研究室にある IVIS^R lumina を用いてルシフェラーゼによるヌードマウス in vivo イメージングを行い、転移能も評価する。ここで新規 EMT 関連遺伝子を同定する。

(3) 網羅的発現解析では、体癌の中でも(1)で抽出した遺伝子発現パターンが癌肉腫に類似するものがあり、その予後は不良であった。(2)で同定した遺伝子に対し、体癌臨床検体 100 例を用いて定量的 PCR および免疫組織化学染色を行い、抽出した遺伝子が予後及び再発のバイオマーカーとなっているか検証する。

4. 研究成果

(1) 癌肉腫は体癌 (類内膜腺癌) よりも肉腫と類似性を認めた。EMT 関連遺伝子群でクラスタリングを行ったところ、癌肉腫の発現パターンは体癌とは全く異なっていた (図 2)。網羅的発現解析で EMT 誘導転写因子群は self-organizing map:SOM で 1 群に集中しており、癌肉腫は子宮体癌よりも肉腫と類似性を認めた。また 39 の EMT 関連遺伝子群でクラスタリングを行ったところ、癌肉腫における発現パターンは子宮体癌とは全く異なっていた (図 3)。

さらにレーザーマイクロダイセクションを用い、癌肉腫の癌部および肉腫部で EMT 関連遺伝子群の発現を比較したところ、肉腫部で Zeb、Twist、Snail などの EMT 誘導転写因子およびそのパスウェイに参与する遺伝子群の高発現を確認した。すなわち EMT が癌肉腫において重要な役割を果たしており、癌肉腫が EMT モデルとして矛盾しない可能性を示した。癌肉腫の網羅的発現解析の報告は現在までになされておらず、重要な知見と考えられる。

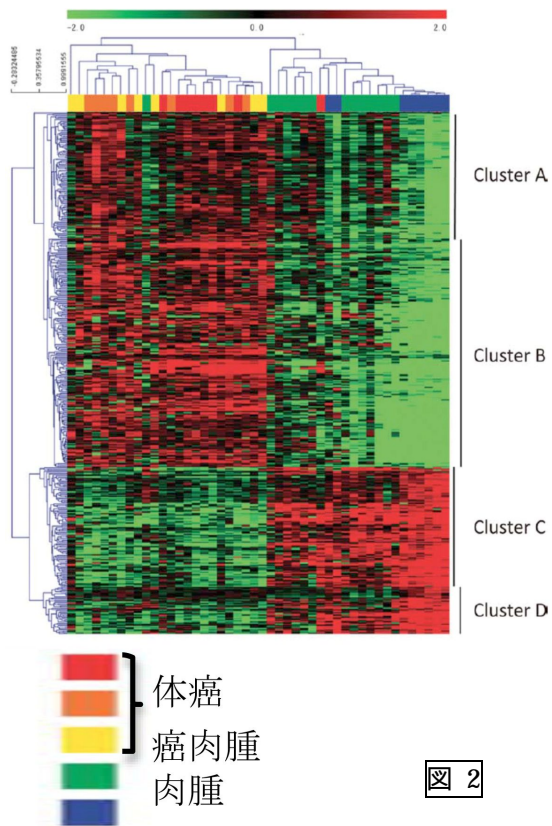


図 2

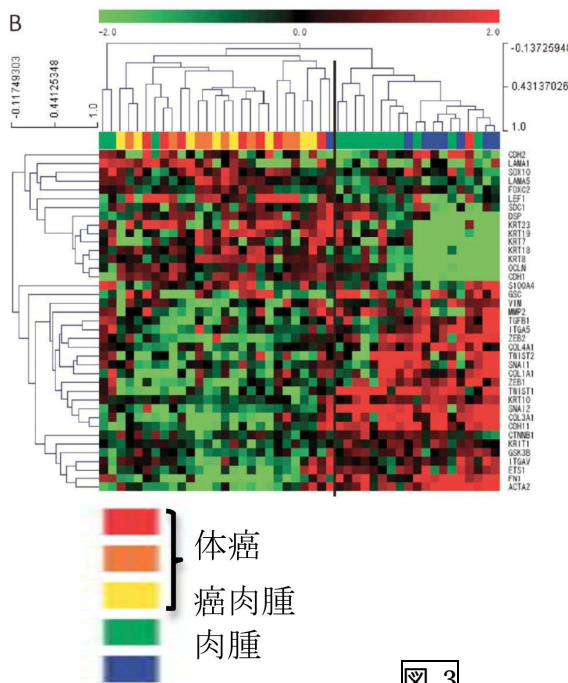


図 3

(2) 癌肉腫細胞株、我々が樹立した体癌高転移株および既知の体癌細胞株を使用した、増殖能、浸潤能の検討による、抽出した遺伝子の機能解析については、検討継続中である。

(3) 抽出した遺伝子が予後および再発のバイオマーカーとなるかの検討においては、癌

肉腫および子宮体癌の臨床献体を用いて、リン酸化 SMAD2/3 の免疫組織化学染色を行い TGF- β シグナル伝達を評価した。癌肉腫の癌部においては、子宮体癌と比較してリン酸化 SMAD2/3 が有意に高発現を示した(図 4)。一方、癌肉腫の癌部および肉腫部におけるリン酸化 SMAD2/3 の発現には有意差は認めなかった(図 5)。今後、リン酸化 SMAD2/3 の発現と予後について多数例において検討予定である。

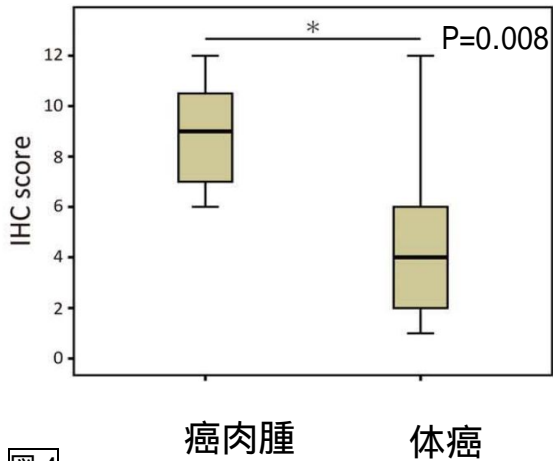


図 4

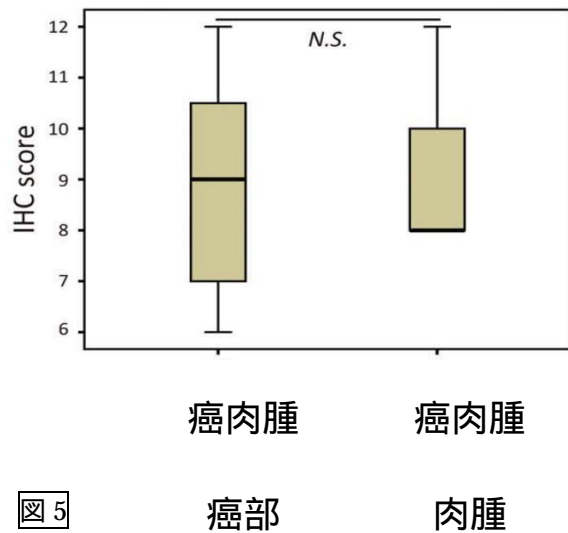


図 5

以上より、子宮体部癌肉腫は EMT 関連遺伝子群によるクラスタリング結果から、子宮体癌とは発現パターンが大きく異なっており、肉腫に類似していることが示唆された。また、子宮体部癌肉腫で活性化されている TGF- β シグナル伝達系の EMT への寄与が示唆された。

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 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]

ホームページ等

慶應義塾大学 医学部 産婦人科学教室
婦人科腫瘍研究室 臨床腫瘍・臨床遺伝部門
<http://www.obgy.med.keio.ac.jp/research/05gy1.php>

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(信濃町)・助教

研究者番号: 40306824

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

田中 英男 (TANAKA, Hideo)