

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：82643

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20161

研究課題名(和文)子宮癌肉腫におけるがん胎児性タンパクIMP3を標的とする新規治療戦略の開発

研究課題名(英文)Development of new treatment strategies targeting IMP3 in uterine carcinosarcoma

研究代表者

植木 有紗(Ueki, Arisa)

独立行政法人国立病院機構(東京医療センター臨床研究センター)・その他部局等・研究員

研究者番号：60445319

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文): IMP3 (Igf2 mRNA-binding protein 3) は胎生期の諸臓器および癌で発現している癌胎児性タンパクである。本研究ではヒト癌肉腫におけるIMP3発現を発現強度および分布について解析し、癌腫成分におけるIMP3発現分布と予後に相関があることを見出した。また本研究では、ヒト癌肉腫の癌腫成分におけるヒストンメチル化修飾がIMP3発現と関連し、全生存期間と相関することを見出した。ヒストン修飾のようなエピジェネティックな機序が、IMP3発現に上流または下流で関わる可能性があり、IMP3は予後因子としてだけでなく、今後癌肉腫治療標的として有用である可能性があるものと考えられる。

研究成果の概要(英文): IMP3 (Igf2 mRNA-binding protein 3) is regarded as a novel oncofetal protein expressed especially during early stage of embryogenesis, but also re-expressed in many malignant tissues. Here we found significant correlation between IMP3 expression and overall survival in human uterine carcinosarcoma (CS).

Histone modification status was also correlated to the IMP3 expression, and considered as an independent prognostic factor in CS. These findings suggested that IMP3 expression might confer epigenetic histone modification. To clarify further mechanical regulation on IMP3 leads to the establishment of new prognostic factors as well as solid therapeutic procedures in CS.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮 癌肉腫 IMP3 エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

子宮癌肉腫は上皮成分と間質成分の両者が悪性を示す特殊な腫瘍であり、婦人科悪性腫瘍の中でも特に予後不良であり、その発症頻度が低いことも要因となり標準的治療法は確立していない。また特殊な成分の存在によって組織診断に苦慮する症例も多く、症例に応じた治療方針や予後予測に組織診断が負う役割の多いことはガイドラインにも明記されている(子宮体がん治療ガイドライン2009年版)が、予後を推測するパラメータは確立されておらず、また治療標的分子の解明も急務である。

Insulin-like growth factor- mRNA-binding protein 3 (IMP3)は胎生期の諸臓器およびがんで発現しているがん胎児性タンパクである。様々な癌腫においてIMP3の高発現とがんの悪性度や予後との相関が報告されている(Jiang et al. Lancet Oncol, 2006; Li et al. Modern Pathol, 2007)。申請者はこれまでにマウス肉腫モデルを用いた実験において、Imp3が悪性腫瘍進展に果たす役割を解明した(Ueki et al. PlosOne, 2012)。Imp3は足場非依存性の増殖、接触増殖阻止能の喪失、アノキス(細胞が接着の足場を失うことで導かれるアポトーシス)からの回避に関与していることが過剰発現、ノックダウンの実験から明らかとなった。さらにin vivoにおいてはImp3が腫瘍形成能の亢進に関与することを明らかにした。即ちImp3の異常発現は、難治性間葉系悪性腫瘍である肉腫における生体での腫瘍原性の制御に密に関わることが示唆された。(図1)

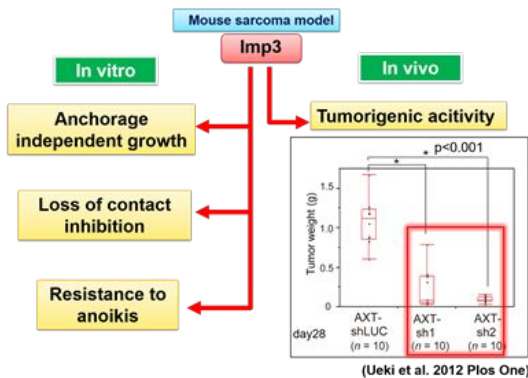


図1. マウス肉腫モデルにおいてImp3はin vitro, in vivoにおいて悪性形質に寄与する

そもそもIMP3はIGF2に結合するRNA結合タンパクとして発見された分子であり、構造上6つのRNA結合ドメインを持ち、その機能はmRNAに結合し、局在や安定性、転写制御に関わると考えられている。結合標的RNAとしては、IGF2、CD44、CD164、MMP9などが報告されているが、真の標的RNA及び機能の詳細についてはいまだ明らかにされていない。そして、本申請研究が標的としている子宮癌肉腫におけるIMP3の発現と悪性度の相関関係はこれまでも報告はない。さらには治療標的としての有用性については未解明である。また我々はマウス肉

腫モデルにおける治療抵抗性に関わる研究で、IMP3の標的分子の一つであるIGF2が細胞を休眠期に至らしめることで治療ストレスから回避し、再発に関わることを報告しており(Shimizu et al. Cancer Res, 2014)、今後はIMP3の果たす役割にも着目していく計画を立てた。

2. 研究の目的

これまでの背景・予備検討結果を基盤として、本申請研究は有効な治療法のない子宮癌肉腫におけるIMP3高発現の意義を解明し、悪性化に関わる分子機構の解明、およびIMP3発現を標的とした新規治療戦略の開発を目的とする。

(1)IMP3発現と臨床像の相関解析

子宮癌肉腫の臨床検体を用いて、IMP3発現陽性症例、発現陰性症例を比較することにより、IMP3高発現と臨床病理学的特徴との関連を明らかとする。

(2)IMP3の制御機構の解明(エピジェネティクスに着目して)

予備検討からIMP3の発現は均一ではなく腫瘍内にIMP3発現陽性部および陰性部が存在している知見を得た。これらを取分け遺伝子発現プロファイリングを比較することにより臨床検体からIMP3の分子標的を明らかとし、未だ解明されていないIMP3の上流、下流の制御機構を導き出す。また、IMP3発現メカニズムとしてのエピジェネティックな制御機構を調査し、治療標的およびバイオマーカーとしての臨床への応用を模索する。

(3)治療標的としてのIMP3発現の臨床的意義の解明
IMP3及び、上記解析から抽出されたIMP3発現に関連する分子が、婦人科悪性腫瘍の有望な新規分子標的となる可能性を検討する。

3. 研究の方法

(1)子宮癌肉腫検体におけるIMP3の免疫組織化学解析

子宮癌肉腫は癌腫成分および肉腫成分が混在した腫瘍であり、間葉系腫瘍および上皮系腫瘍における発がん機序を評価する点においても最適な検体と考えられる。今回、子宮癌肉腫21検体を使用してIMP3免疫組織化学による解析を実施し、IMP3の発現強度および分布について検討を行った。またIMP3発現陽性症例、陰性症例を比較し、IMP3高発現と関連する臨床像を解析した。さらには発現強度、発現分布という組織評価に加え、浸潤所見や転移巣(リンパ節、播種巣)におけるIMP3発現などの臨床情報を用いて予後との相関を検討し、独立した予後因子について解析した。

(2)遺伝子発現プロファイルの比較

子宮癌肉腫のホルマリン固定・パラフィン包埋組織から、IMP3発現陽性部および陰性部を取分けtotal RNAを抽出しそれぞれの部位

においての発現アレイ解析を行った。

(3) ヒト癌肉腫検体におけるヒストン修飾に関する免疫組織化学的検討

申請者は、これまでにマウス肉腫モデルを用いた先行研究において RNA 免疫沈降法 (RIP assay) により標的となる RNA を検討した。その結果、いくつかのヒストン修飾に関わる分子の RNA が Imp3 の結合する mRNA の候補として考えられた。このことより、エピジェネティクス関連の遺伝子群が IMP3 の標的分子である可能性の示唆を得たため、ヒト癌肉腫検体におけるヒストン修飾状態および、IMP3 の結合する候補分子の実際の臨床検体における発現を免疫組織化学的に解析し、IMP3 発現との相関について検討した。

4. 研究成果

(1) 子宮癌肉腫検体における IMP3 の免疫組織化学的解析

ヒト癌肉腫における IMP3 発現を発現強度および分布について解析した。癌腫成分における IMP3 発現と全生存期間について、Kaplan-Meier 解析で IMP3 発現の強く、分布のひろい症例ほど予後不良であるという傾向がみられ、IMP3 発現分布については log-rank テストで有意差が認められた。(図 2) 一方で癌肉腫の肉腫成分における IMP3 発現は、発現強度・分布ともに予後相関において有意差を認めなかったため、以後の検討は癌腫成分を中心に解析することとした。また IMP3 発現と予後相関が認められたことをうけて、臨床情報を加味して解析を行ったところ COX 比例ハザードモデルでは、stage, 転移の有無、IMP3 発現分布が予後因子として抽出された。

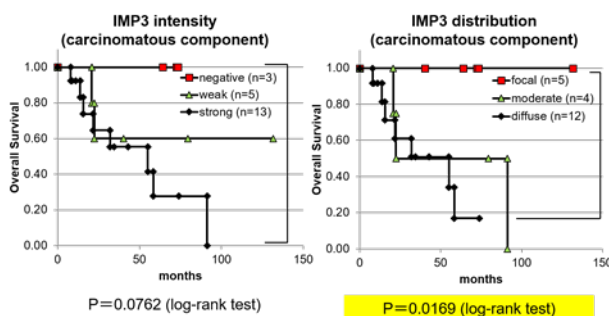


図2. ヒト癌肉腫(癌腫成分)におけるIMP3発現と予後相関

(2) 遺伝子発現プロファイルの比較

子宮癌肉腫のホルマリン固定・パラフィン包埋組織から、とくに IMP3 発現の強く広範な腫瘍 3 検体を選択し IMP3 発現陽性部および陰性部を分取した。これらの腫瘍組織から total RNA を抽出しそれぞれの部位においての発現アレイ解析を行い、IMP3 発現の有無で発現変動した分子について解析を行った。現段階で IMP3 と関連する候補分子として細胞接着に関する分子等が抽出されているが、今後さらに具体的な機能解析を行い直接の関

連について解明することを試みる。

さらにこれまでの知見からエピジェネティクス関連の遺伝子群が IMP3 の標的分子である可能性の示唆を得たため、特にこれら分子についても注目して解析を施行してゆく。この抽出作業を通じて、先行研究で明らかになった IMP3 の in vivo における腫瘍原性の付与について、新たな知見が得られることが期待される。

(3) ヒト癌肉腫検体におけるヒストン修飾に関する免疫組織化学的検討

マウス肉腫モデルにおける Imp3 発現制御
マウス肉腫モデルを用いた先行研究で、エピジェネティクス関連薬剤として DNMT1 阻害剤(5AzaD)および HDAC 阻害剤(TSA, VPA, SAHA)を添加すると、Imp3 発現は mRNA レベルで上昇した。これは、IMP3 発現がエピジェネティックな制御を受けている可能性を示唆する結果である。(図 3)

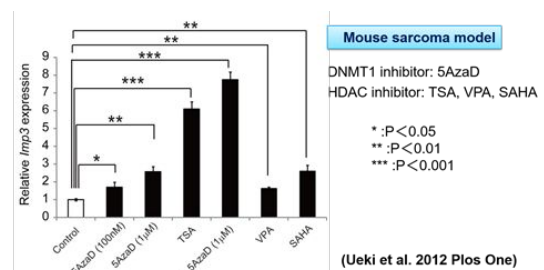


図3. マウス肉腫モデルにおけるエピジェネティクス関連薬剤添加によるImp3発現制御

ヒト癌肉腫検体におけるヒストン修飾の免疫組織化学的解析

そもそも IMP3 はがん胎児性蛋白であり、胎生期に発現がみられるものの、出生後は正常組織での発現は見られず、がんで発現がみられる蛋白である。

マウス肉腫モデルの実験から、がんでの発現制御に、エピジェネティックな修飾が関わっているのではないかという知見を得て、今回はとくにヒストン修飾に着目し、関連性を検討した。

一般に、ヒストンのアセチル化は構造をオープンにし、転写を促進する働きである。またヒストンのメチル化は構造をクローズにし、転写を抑制する働きである。いくつかのヒストン修飾について検討したところ、本研究においては H3K9me3 が IMP3 に関わるヒストン修飾の候補として挙げられた。そこで H3K9me3 について免疫組織化学で解析を行い、H3K9me3 の発現強度と全生存期間には予後相関が有意にみられたことを明らかにした。(図 4)一方で、H3K9ac の発現と予後には相関は認められなかった。

さらに、H3K9me3 と IMP3 発現は同じ組織内での発現に相関が認められ、協同して働く可能性が示唆された。

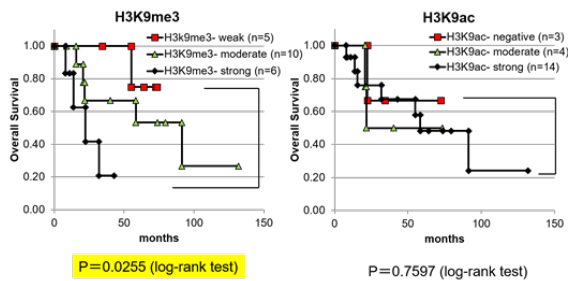


図4. ヒト癌肉腫(癌腫成分)におけるヒストン修飾と予後相関

(4)総括と展望

ヒト癌肉腫の癌腫成分における IMP3 の発現は全生存期間と相関していた。そしてヒストンメチル化修飾も全生存期間との相関が明らかになった。本研究により IMP3 とヒストンメチル化修飾がヒト癌肉腫において関連することが示唆された。IMP3 は転写翻訳の制御に関わるとされているが、第一の仮説として H3K9me3 化が上流で起こり、IMP3 発現をきたし、IMP3 の引き起こす oncogenic な特質に寄与するというメカニズムが示唆される。また一方で、IMP3 発現が下流で H3K9me3 化をきたし、IMP3 の引き起こす oncogenic な特質に寄与するという可能性も示唆される。このようなエピジェネティックな修飾が IMP3 発現に上流または下流に関わる可能性があり、癌胎児性蛋白である IMP3 は予後因子としてだけでなく、今後癌肉腫治療標的として有用である可能性があるものと考えられる。(図5)

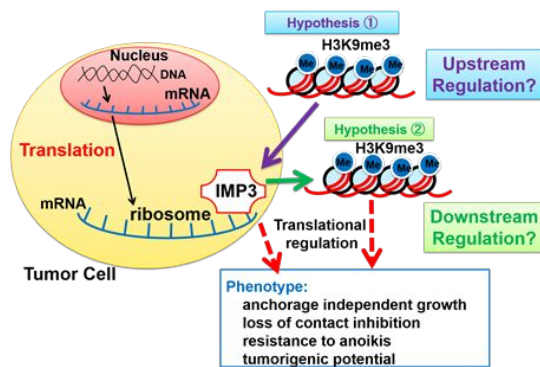


図5. ヒト癌肉腫におけるIMP3発現とH3K9me3の予想関連図

エピジェネティクス関連の諸研究から、神経発生の際にはまずヒストン修飾が決まりその後DNAのメチル化が起きてくることや、ヒストン修飾がDNAメチル化よりも周囲の環境因子(低酸素、低栄養など)の影響を受けやすいことが明らかにされてきており、がん胎児性タンパクの発現制御にもヒストン修飾に関わる可能性が高いと推察する。

今後の研究の進展によりヒト生体内でIMP3発現を制御するメカニズムを探求することで、がんの悪性度を決定づける機序の解明につながる意義がある。がんとエピジェネティクスについては近年注目の研究分野で

あるが、がん胎児性タンパクの発現制御について報告はなく、独創的な研究対象と考える。またIMP3は、婦人科悪性腫瘍のみならず様々な癌腫において普遍的な治療標的分子として有望であり、がん胎児性タンパクであることからがん特異的な作用が期待でき、将来的な応用展開が大いに期待される。

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 12 件)

植木有紗、平沢晃、青木大輔、遺伝性乳がん、White、査読なし、6巻1号、2018、p.15-22

植木有紗、平沢晃、青木大輔、遺伝性腫瘍に対するリスク低減卵管卵巣摘出術RRSOの臨床試験やその適応、手技の実際と留意すべきポイント、産婦人科の実際、査読なし、67巻5号、2018、p.549-556

植木有紗、阪埜浩司、青木大輔、【NGS時代における遺伝性腫瘍の診断とマネージメント】遺伝性婦人科腫瘍、最新医学、査読なし、73巻3号、2018、p.374-379

植木有紗、中田さくら、安齋純子、他9名、一般病院における家族性腫瘍相談外来とハイリスク外来の開設一般病院に求められる家族性腫瘍診療の意義についての考察、家族性腫瘍、査読有、第16巻2号、2017、p.38-43

植木有紗、リンチ症候群における遺伝カウンセリング、医療、査読有、第70巻8/9号、2016、p.376-80

Masuda K, Hirasawa A, Irie-Kunitomi H, Akahane T, Ueki A, Kobayashi Y, Yamagami W, Nomura H, Kataoka F, Tominaga E, Banno K, Susumu N, Aoki D. Clinical utility of a self-administered questionnaire for assessment of hereditary gynecologic cancer. Jpn J Clin Oncol. 査読有、47(5):2016、p.401-406. doi: 10.1093/jjco/hyx019.

Yamaguchi SI, Ueki A, Sugihara E, Onishi N, Yaguchi T, Kawakami Y, Horiuchi K, Morioka H, Matsumoto M, Nakamura M, Muto A, Toyama Y, Saya H, Shimizu T. Synergistic antiproliferative effect of imatinib and adriamycin in platelet-derived growth factor receptor-expressing osteosarcoma cells. Cancer Sci. 査読有、106(7)、2015、p.875-82. doi: 10.1111/cas.12686.

Adachi M, Banno K, Yanokura M, Iida M, Nakamura K, Nogami Y, Umene K, Masuda K, Kisu I, Ueki A, Hirasawa A,

Tominaga E, Aoki D. Risk-reducing surgery in hereditary gynecological cancer: Clinical applications in Lynch syndrome and hereditary breast and ovarian cancer. *Mol Clin Oncol*. 査読有、3(2)、2015、p.267-273. DOI: 10.3892/mco.2014.460

Masuda K, Chiyoda T, Sugiyama N, Segura-Cabrera A, Kabe Y, Ueki A, Banno K, Suematsu M, Aoki D, Ishihama Y, Saya H, Kuninaka S. LATS1 and LATS2 phosphorylate CDC26 to modulate assembly of the tetratricopeptide repeat subcomplex of APC/C. *PLoS One*. 査読有、10(2)、2015:e0118662.

doi: 10.1371/journal.pone.0118662.

Kobayashi Y, Nakamura K, Nomura H, Banno K, Irie H, Adachi M, Iida M, Umene K, Nogami Y, Masuda K, Kisu I, Ueki A, Yamagami W, Kataoka F, Hirasawa A, Tominaga E, Susumu N, Aoki D. Clinicopathologic analysis with immunohistochemistry for DNA mismatch repair protein expression in synchronous primary endometrial and ovarian cancers. *Int J Gynecol Cancer*. 査読有、25(3) 2015、440-6. doi: 10.1097/IGC.0000000000000377.

植木有紗、増田健太、平沢晃、中田さくら、青木大輔、卵巣癌、日本臨床増刊号 家族性腫瘍学 家族性腫瘍の最新研究動向、日本臨床、査読なし、73 巻増刊号 6(通巻 1083 号) p462-466.

植木有紗、阪埜浩司、青木大輔、遺伝性乳癌卵巣癌のマネジメント 家族歴の取り方 家系図の書き方とリスクアセスメント、産科と婦人科、査読なし、6号(7)、2015、p.619-626.

[学会発表](計 17 件)

植木有紗、「遺伝性腫瘍診療における転換期を迎えて遺伝カウンセリングの役割を再考する」第 153 回日本医学会シンポジウム、2018 年 6 月

植木有紗、「遺伝性婦人科癌に対する遺伝カウンセリング」第 70 回日本産科婦人科学会学術講演会 生涯研修プログラム 4、2018 年 5 月

植木有紗、「HBOC ガイドライン」日本乳癌卵巣癌症候群総合診療制度機構 (JOHBOC) 主催 HBOC 教育セミナー第 1 回～第 4 回、2017 年 2 月～

植木有紗、「遺伝性乳がん卵巣がん症候群 婦人科」近畿大学主催平成 29 年度がんプロフェッショナル養成プラン 第 1 回遺伝カウンセリングに強い多職種がん専門医療人養成コース がん診療における遺伝性乳がん卵巣がん症候群 (HBOC) への対応、2017 年 12 月

平沢晃、植木有紗、「遺伝カウンセリング ロールプレイ認定講習会 婦人科腫瘍分野」第 3 回日本産科婦人科遺伝診療学会、2017 年 12 月

植木有紗、山澤一樹、安齋純子、井上沙聡、笹岡綾子、永山愛子、松井哲、松永達雄、「BRCA1 および BRCA2 に重複した病的変異を認めた 1 例」第 23 回日本家族性腫瘍学会学術集会、2017 年 8 月

植木有紗、(パネルディスカッション) 「FCC であることの意義と遺伝性腫瘍診療における今後の課題」第 23 回日本家族性腫瘍学会学術集会、2017 年 8 月

植木有紗、「HBOC 診療におけるディベートミーティング 婦人科編」北野病院遺伝性腫瘍セミナー、2017 年 2 月

平沢晃、植木有紗、「遺伝カウンセリング ロールプレイ認定講習会 婦人科腫瘍分野」第 2 回日本産科婦人科遺伝診療学会、2016 年 12 月

植木有紗、「リンチ症候群の婦人科疾患」日本家族性腫瘍学会第 18 回家族性腫瘍セミナー、前期 2015 年 8 月、後期 2016 年 3 月

植木有紗、【婦人科遺伝性腫瘍取り扱いの実際と今後の展望】「婦人科遺伝性腫瘍における遺伝カウンセリングと、地域がん診療連携拠点病院における家族性腫瘍相談外来の課題」(招待講演) 第 58 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会ワークショップ、2016 年 7 月

植木有紗、平沢晃、今村知世、武田裕子、守屋利佳、赤羽智子、増田健太、中田さくら、安齋純子、三須久美子、阪埜浩司、小崎健次郎、谷川原祐介、青木大輔、(要望演題)「がんプロフェッショナル養成基盤推進プランを通じた医療従事者への家族性腫瘍教育の取り組み—HBOC に対する PARP 阻害薬承認を見据えて—」第 22 回日本家族性腫瘍学会学術集会、2016 年 6 月

平沢晃、植木有紗、大瀬戸久美子、「婦人科腫瘍：遺伝性腫瘍-HBOC を中心に～」第 1 回日本産科婦人科遺伝診療学会 ロールプレイ講習会、2015 年 12 月

植木有紗、阪埜浩司、小林佑介、飯田美穂、梅根紀代子、増田健太、中田さくら、真杉洋平、清水孝恒、坂元亨宇、佐谷秀行、青木大輔、「癌胎児性蛋白 IMP3 は子宮癌肉腫の予後と関連し、ヒストン修飾と関連する」第 53 回日本癌治療学会学術集会、2015 年 10 月

植木有紗、中田さくら、安齋純子、麻薙美香、三須久美子、平沢晃、増田健太、阪埜浩司、菅野康吉、小崎健次郎、青木大輔、【シンポジウム：産婦人科医が関与する遺伝カウンセリング】「地域がん診療連携拠点病院における家族性腫瘍相談外来の開設と、婦人科遺伝性腫瘍における遺伝カウンセリング」第 39 回日本遺伝

カウンセリング学会学術集会、2015年6月

植木有紗、安齋純子、中田さくら、麻薙美香、嶋田恭輔、久保内光一、三須久美子、平沢晃、阪埜浩司、菅野康吉、小崎健次郎、青木大輔、「一般病院における家族性腫瘍相談外来とハイリスク外来の開設」、第21回日本家族性腫瘍学会、2015年6月

植木有紗、阪埜浩司、小林佑介、梅根紀代子、増田健太、中田さくら、真杉洋平、清水孝恒、田中守、青木大輔、「癌胎児性蛋白IMP3は癌肉腫の予後と相関し、エピジェネティックな制御を受ける」、優秀演題賞受賞、第67回日本産科婦人科学会、2015年4月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植木 有紗 (UEKI, Arisa)

独立行政法人国立病院機構(東京医療センタ

ー臨床研究センター)・研究員

研究者番号 60445319