

平成 30 年 9 月 14 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19095

研究課題名(和文)造血器腫瘍における性ホルモンの役割の解明

研究課題名(英文)The role of sexual hormone in hematological malignancies

研究代表者

佐々木 裕哉(Sasaki, Yuya)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：50750725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：主にびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)を対象にエストロゲンレセプターアルファ、エストロゲンレセプターベータの発現割合を臨床病理学的に検討した。また、DLBCL由来細胞株を用いてエストロゲンレセプター阻害剤を用いて同薬剤による培養細胞への影響を検討した。その結果、MAPキナーゼ経路を通じて細胞周期の停止に関わっていることを確認した。この結果は新規治療開発に繋がる可能性があるものである。

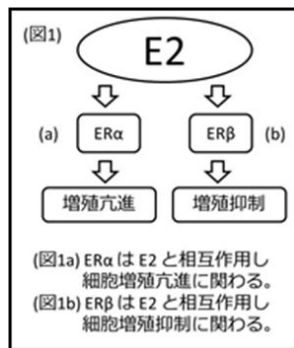
研究成果の概要(英文)：We clinically and pathologically analyzed the expression rate of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta, mainly for diffuse large cell type B cell lymphoma (DLBCL). Furthermore, we analyzed the effect of an estrogen receptor inhibitor on cultured cells derived from DLBCL. As a result, we obtained the result of the effect of the drug, involved in cell cycle arrest through the MAP kinase pathway. This result may lead to new therapeutic development.

研究分野：造血器腫瘍(特に悪性リンパ腫 白血病)

キーワード：悪性リンパ腫 白血病 多発性骨髄腫 骨髄増殖性疾患 骨髄異形成症候群 エストロゲンレセプター

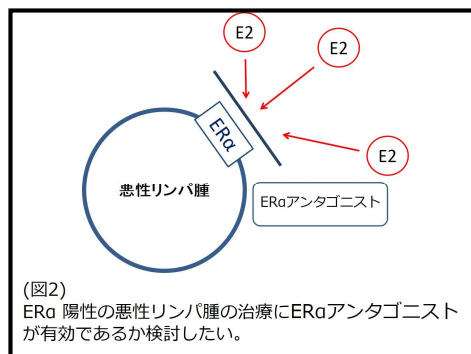
1. 研究開始当初の背景

性ホルモンが造血機構に与える影響に関する研究はこれまであまり行われていない。エストロゲンレセプター (ER) アルファ (ERα) を介するシグナル伝達経路が細胞増殖に関与するのに対して、エストロゲンレセプターβ (ERβ) の関与する経路は細胞増殖抑制的に関わる。エストロゲンうちの生理活性の高い エストラジオール (E2) は受容体タンパク質 ERα との相互作用により細胞増殖を促すことが知られている (図 1a)。また、ERβ は E2 との相互作用により細胞増殖抑制に関与する受容体タンパク質である (図 1b)。近年、造血幹細胞分画に発現する ERα がエストロゲン依存性に造血細胞の増殖を制御することがマウスモデルを用いた研究で示された (Nakada D, et al: Nature, 2014)。マウスの造血幹細胞において E2-ERα の相互作用の重要性が明らかになりつつある中、E2- ERα あるいは E2-ERβ のシグナル伝達経路とヒト造血器腫瘍との関連を明確に示した報告は少ない。



2. 研究の目的

本研究の目的は 患者検体、培養細胞等を用いて造血器腫瘍における ER の発現と機能を検討することにより、造血器腫瘍の増殖における ER の役割を明らかにすることである。本研究の成果は造血器腫瘍の分子病態の解明に貢献するだけでなく、ERα をターゲットとする新規治療開発に繋がる可能性がある (図 2)。



3. 研究の方法

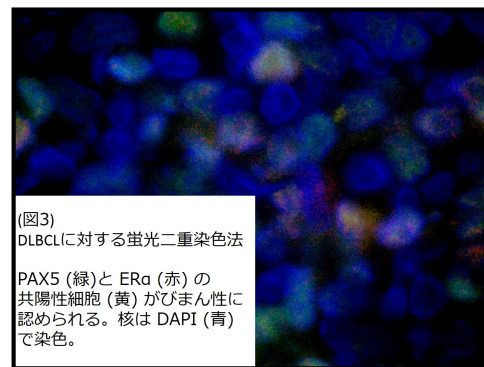
(1) 臨床病理学的検討
 悪性リンパ腫の各亜型に対して患者検体を用いたスクリーニングとして免疫染色法

(IHC) による ERα 発現のスクリーニングを行い対象とする亜型を決定した。その後、tissue microarray (TMA) を作成し陽性率を検討した。また、年齢、性別や予後を含む臨床情報と照合し、ERα 発現様式との関連を検討した。

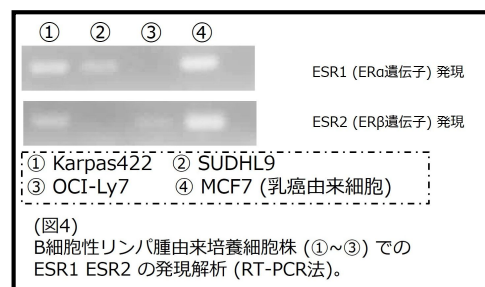
(2) 培養細胞を用いた検討
 びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) 由来細胞株 Karpas422、SUDHL9、OCI-Ly7 を用いて ERα、ERβ 遺伝子である ESR1、ESR2 の発現解析を行った。さらに E2 投与の影響、ERα ダウンレギュレーターであるフルベストラント (FUL) の影響を検討した。Karpas422、SUDHL9、OCI-Ly7 に対して FUL の効果を APC BrdU Flow Kit を用いたフローサイトメトリー法で細胞周期への影響を検討した。さらに Karpas422 に対しては FUL 投与による遺伝子発現の変化をマイクロアレイ法によって行った。

4. 研究成果

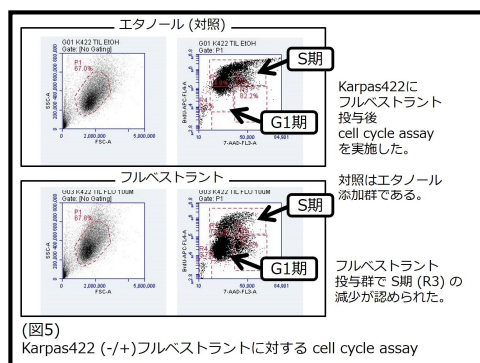
(1)
 138 例中 21 症例 (15%) で ERα 陽性細胞が認められた (図 3)。この ERα 陽性 DLBCL について男女差は認められなかった。また、症例の一部では腫瘍環境細胞に ER 陽性であった。



(2)
 DLBCL 由来細胞株のスクリーニングにより Karpas422、SUDHL9 が ESR1 陽性、OCI-Ly7 が ESR1 陰性であった (図 4)。



(3) Karpas422、SUDHL9、OCI-Ly7 それぞれにフルベストラントを投与したところ、Karpas422 と SUDHL9 に対してフルベストラントの濃度依存的に G1 arrest が生じたが、OCI-Ly7 では細胞周期への影響が認められなかった (図 5)。



また、マイクロアレイ解析の結果、フルベストラントの投与によって MAP キナーゼ関連遺伝子の発現に差が生じていた。また、エストラジオール添加は Karpas422、SUDHL9 の増殖には寄与しないことが分かった。

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 14 件)

(1) Sasaki Y, Ueno NT. The Emerging Impact of Social Media on Cancer Patient Education in Japan. *Oncologist*. 2018. [Epub ahead of print]

(2) Asano N, Miyoshi H, Kato T, Shimono J, Yoshida N, Kurita D, Sasaki Y, Kawamoto K, Ohshima K, Seto M. Expression pattern of immunosurveillance-related antigen in adult T cell leukaemia/lymphoma. *Histopathology*. 72(6):945-954. 2018.

(3) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Kozai Y, Kato K, Miyahara M, Yujiri T, Choi I, Fujimaki K, Muta T, Kume M, Moriguchi S, Tamura S, Kato T, Tagawa H, Makiyama J, Kanisawa Y, Sasaki Y, Kurita D, Yamada K, Shimono J, Sone H, Takizawa J, Seto M, Kimura H, Ohshima K. A distinct subtype of Epstein-Barr virus-positive T/NK-cell lymphoproliferative disorder: adult patients with chronic active Epstein-Barr virus infection-like features. *Haematologica*. 103(6):1018-1028. 2018.

(4) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Kiyasu J, Yokoyama S, Sasaki Y, Sone H, Seto M, Takizawa J, Ohshima K. Expression of programmed death ligand 1 is associated with poor prognosis in myeloid sarcoma patients. *Hematol Oncol*. 2018. [Epub ahead of print]

(5) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Sasaki Y, Yamada K, Yanagida E, Muto R, Kiryu M, Sone H, Seto M, Ohshima K, Takizawa J. Frequent expression of CD30 in extranodal NK/T-cell lymphoma: Potential therapeutic target for anti-CD30 antibody-based therapy. *Hematol Oncol*. 36(1):166-173. 2018.

(6) Sasaki Y, Seto M, Miyoshi H, Okada S, Yokoyama S, Ohsima A, and, Ohshima K. Papillary thyroid carcinoma expressing CD20. *Pathology International*. 67(7):350-354. 2017

(7) Shimono J, Miyoshi H, Kamimura T, Eto T, Miyagishima T, Sasaki Y, Kurita D, Kawamoto K, Nagafuji K, Seto M, Teshima T, Ohshima K. Clinicopathological features of primary splenic follicular lymphoma. *Ann Hematol*. 96(12):2063-2070. 2017.

(8) Shimono J, Miyoshi H, Arakawa F, Sato K, Furuta T, Muto R, Yanagida E, Sasaki Y, Kurita D, Kawamoto K, Nagafuji K, Ohshima K. Prognostic factors for histiocytic and dendritic cell neoplasms. *Oncotarget*. 8(58):98723-98732. 2017.

(9) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Muto R, Yamada K, Yanagida E, Koshino M, Sasaki Y, Takizawa J, Sone H, Sugita Y, Seto M, Ohshima K. Clinicopathological features of cryptococcal lymphadenitis and a review of literature. *J Clin Exp Hematop*. 57(1):26-30 2017

(10) Sasaki Y, Guo Y, Arakawa F, Miyoshi H, Yoshida N, Koga Y, Nakashima K, Kurita D, Niino D, Seto M, Ohshima K. Analysis of the BRAFV600E mutation in 19 cases of Langerhans cell histiocytosis in Japan. *Hematological Oncology*. 35(3):329-334. 2016

(11)
Kishimoto W, Nishikori M, Arima H, Miyoshi H, **Sasaki Y**, Kitawaki T, Shirakawa K, Kato T, Imaizumi Y, Ishikawa T, Ohno H, Haga H, Ohshima K, Takaori-Kondo A. Expression of Tim-1 in primary CNS lymphoma. *Cancer Med*. 5(11):3235-45, 2016.

(12)
Kurita D, Miyoshi H, Yoshida N, **Sasaki Y**, Kato S, Niino D, Sugita Y, Hatta Y, Takei M, Makishima M, Ohshima K. A clinicopathologic study of Lennert lymphoma and possible prognostic factors: the importance of follicular helper T-cell markers and the association with angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 40(9):1249-60, 2016.

(13)
Miyoshi H, Kiyasu J, Kato T, Yoshida N, Shimono J, Yokoyama S, Taniguchi H, **Sasaki Y**, Kurita D, Kawamoto K, Kato K, Imaizumi Y, Seto M, Ohshima K. PD-L1 expression on neoplastic or stromal cells is respectively a poor or good prognostic factor for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*. 128(10):1374-81, 2016.

(14)
Yoshida N, Miyoshi H, Kato T, Sakata-Yanagimoto M, Niino D, Taniguchi H, Moriuchi Y, Miyahara M, Kurita D, **Sasaki Y**, Shimono J, Kawamoto K, Utsunomiya A, Imaizumi Y, Seto M, Ohshima K. CCR4 frameshift mutation identifies a distinct group of adult T-cell leukemia/lymphoma with poor prognosis. *J Pathol*. 238(5):621-626, 2016.

〔学会発表〕(計 7 件)

(1)
Sasaki Y, Yoshida N, Miyoshi H, Kawamoto K, Kurita D, Seto M, Ohshima K. Clinicopathological features of estrogen receptor (ER) alpha-positive diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and functional analysis of the role of ER alpha in DLBCL-derived cell lines. *ASH Meeting on Lymphoma Biology*, 2018

(2)
Sasaki Y, Yoshida N, Miyoshi H, Saji S, Kurita D, Seto M, Ohshima K. DLBCL with estrogen receptor alpha; clinicopathological analysis and functional

analyses in cell lines. *The 78th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology*, 2017.

(3)
Sasaki Y, Yoshida N, Miyoshi H, Kawamoto K, Shimono J, Kurita D, Seto M, Ohshima K. Clinicopathological analysis of estrogen receptor alpha DLBCL. *The 57th Annual Meeting of The Japanese Society for Lymphoreticular Tissue Research*, 2017.

(4)
Sasaki Y, Miyoshi H, Ohshima K. Two cases of papillary thyroid carcinoma expressing CD20(L26). *The 105th Annual Meeting of the Japanese Society of Pathology*, 2016.

(5)
Sasaki Y, Miyoshi H, Ohshima K. Two cases of papillary thyroid carcinoma expressing CD20. *The 14th the Japanese Society of Medical Oncology Annual Meeting*, 2016.

(6)
Sasaki Y, Seto M, Miyoshi H, Ohshima A, Ohshima K. Papillary thyroid carcinoma expressing CD20. *The 86th Annual Meeting of American Thyroid Association*, 2016.

(7)
Sasaki Y, Yoshida N, Seto M, Miyoshi H, Ohshima K. Diffuse large B-cell lymphoma with expression of estrogen receptor alpha. *The 78th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology*, 2016.

〔図書〕(計 3 件)

(1)
佐々木裕哉 『骨髄検査はいつ行うか』 *メディカル・サイエンス・インターナショナル*. *Hospitalist*. 4(3): 442-5, 2016.

(2)
佐々木裕哉, 大島孝一, 鈴宮淳司 『低悪性度 B 細胞腫瘍の診療と研究の新展開 白血化をきたす B 細胞リンパ腫疾患群と慢性リンパ性白血病の鑑別のポイント』 *月刊血液内科*. 72(1):21-7, 2016.

(3)
佐々木裕哉, L Jeffrey Medeiros. 『乳房イ

ンプラント関連未分化大細胞型 リンパ腫』
リンパ腫アトラス第 5 版. [in press]

〔産業財産権〕

取得状況（計 1 件）

名称：悪性リンパ腫処置用の医薬組成物
発明者：佐々木裕哉、大島孝一、佐治重衡、
三好寛明、吉田稚明、中嶋一貴
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2017-104649
出願年月日：平成 29 年 5 月 26 日
国内外の別： 国内

〔その他〕

ホームページ等；該当なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

佐々木裕哉 (SASAKI, Yuya)
久留米大学・医学部病理学・助教
研究者番号：50750725