

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591962

研究課題名(和文) 子宮腫瘍(頸癌・体癌)及び子宮内膜における糖脂質糖鎖の生理機能

研究課題名(英文) Bio-function of glycolipids in uterine endometrial adenocarcinoma and cervical carcinoma, and uterine endometrium

研究代表者

三上 幹男(MIKAMI MIKIO)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：30190606

研究成果の概要(和文)：

細胞膜上の糖鎖は、細胞相互の認識や分化などの機能に関与すると同時に、癌化に伴いその構造が変化し腫瘍マーカーとしても汎用されている。糖鎖は翻訳後修飾でありポストゲノム時代に突入した現在、腫瘍学においても特に注目されている。本研究では、子宮体癌では「糖脂質の硫酸化が体癌の分化に関与しており、その発現は硫酸基転移酵素(CST)によって調節されていること、レクチンアレイを用いた糖蛋白質糖鎖分析により正子宮内膜、高分化型と低分化型癌の判別、低分化方癌では進行度の判別が可能であること」、子宮頸癌については「腺癌、小細胞癌においてのみ糖脂質の硫酸化が起こっていること、硫酸基転移酵素が癌浸潤に関与すること」を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

Carbohydrate chains on cell membranes contributes to the mutual recognition of various cells and cell differentiation, and the structure of carbohydrate chains changes with oncogenesis. In this study, we have clarified that "sulfation of glycolipid contributes to the differentiation of endometrial cancer, and that by the lectin array evaluating carbohydrate chains of the glycoproteins, the differentiation and staging of endometrial cancer can be correctly diagnosed, and that in uterine cervical cancers, the sulfation of glycolipids occurs only in adenocarcinomas and small cell carcinomas, and CST (Cerebroside sulfotransferase might be involved in cancer invasion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：婦人科腫瘍学

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：子宮体癌、子宮頸癌、子宮内膜、分化度、腺腔形成、糖脂質・硫酸化糖脂質、スルファチド、レクチンアレイ

1. 研究開始当初の背景

細胞膜上の糖脂質・糖蛋白質は細胞、組織の癌化・分化・増殖に伴いその組成が変化し、

糖鎖だけでなくその糖鎖を合成する糖転移酵素も生理活性を有していることが報告されている。糖鎖は翻訳後修飾によって始めて

付加されるものでありポストゲノム研究としては避けておれないもので、事実、増殖因子、その受容体、酵素、及び抗体などに関して、糖鎖付加がなされなくてはその機能発現もないとの報告が数多くなされている。つまり、蛋白あるいは脂質の機能発現には糖鎖伸長が必要不可欠であり、その糖鎖に関しての研究は婦人科領域では全くなされていないのが現状である。

申請者らはすでに子宮体癌の組織分化に伴う硫酸化糖脂質の発現量の変化、子宮内膜の内分泌環境の変化に伴う硫酸化糖脂質の増量・新たな発現、体癌培養細胞の組織分化誘導における硫酸化糖脂質の必要性について報告してきている。申請者の研究をさらに発展させ臨床応用の可能性を探る上での大切な着眼点としては、「(1) 体癌の予後決定因子の中で一番重要である分化度（腺腔形成率）と硫酸化脂質、糖蛋白質糖鎖との関係を明らかにすること」、「(2) 子宮頸癌では糖脂質糖鎖はどのような役割をしているのか？そして特異的に発現する糖鎖の頸癌における機能は？機能解析のための子宮頸癌正所移植転移浸潤モデルラットはできないか？」、「(3) 正常分泌期子宮内膜に特異的に発現する硫酸化糖脂質の生理機能は何か？」の3点であった。本研究ではこの3点に着目して研究計画を立て実行に移した。

2. 研究の目的

(1) 子宮体癌における組織分化度と硫酸化糖脂質・糖蛋白質糖鎖の発現に関する検討

①各分化型体癌組織を用いて硫酸糖脂質の発現解析を行い、その発現に関与する糖鎖合成酵素の蛋白・mRNA 発現を分析し、発現を調節している因子を探る。

②正常子宮内膜、各分化型子宮体癌組織の糖蛋白質糖鎖発現をレクチンアレイにて分析し、それらの判別が可能か、可能であれば臨床病理学的因子との関連性はないか、臨床応用の可能性を探る。

(2) 子宮頸癌における糖脂質糖鎖の発現と癌特性との関連

①各組織型頸癌における硫酸糖脂質の発現解析を行い、その発現に関与する糖鎖合成酵素の蛋白・mRNA 発現を分析し、発現を調節している因子を探る。

②頸癌由来培養細胞を用いた正所移植頸癌モデルを作成し、糖脂質の発現を調節した培養細胞を用いて糖脂質糖鎖と癌の浸潤・転移（血行、リンパ行）などの特性との関連性を追及する。

(3) 分泌期子宮内膜に特異的に発現する硫酸化糖脂質と内膜機能との関連

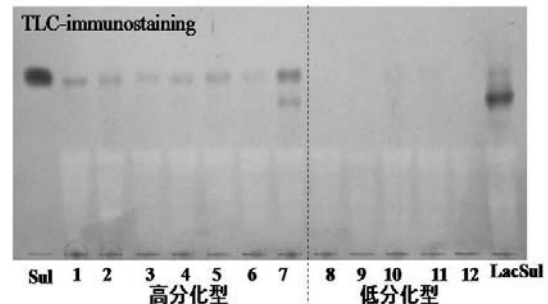
NOG マウスに移植してホルモン投与を行った内膜組織の硫酸化糖脂質及び硫酸基転移酵素蛋白発現の解析、ヒト子宮分泌期内膜を

用いた硫酸化糖脂質発現の局在解析を行い、硫酸化糖脂質の内膜における機能を探る。

4. 研究成果

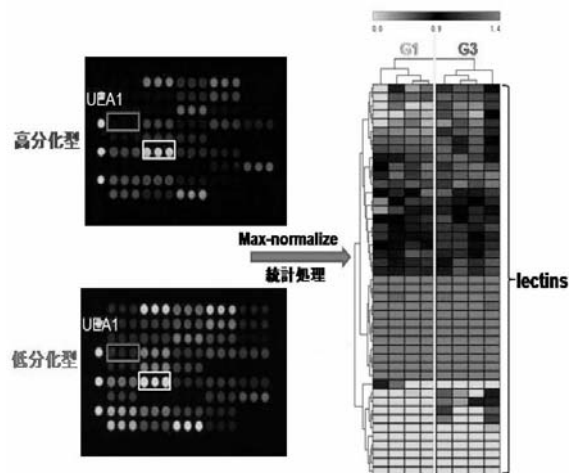
(1) 子宮体癌における組織分化度と硫酸化糖脂質・糖蛋白質糖鎖の発現に関する検討

①各分化型体癌組織の硫酸糖脂質 (Sul1) の発現解析



高分化型体癌でのみ硫酸化糖脂質の発現が観察され、酵素蛋白、mRNA 分析により、CST（硫酸基転移酵素）がその発現を調節していることが明らかになった。本検討ではすでに硫酸化糖脂質発現に関して体癌由来培養細胞についても行っており、次のステップとして、硫酸化糖脂質の発現量を調節した培養細胞を CST 遺伝子導入によって作成し、体癌における硫酸化糖脂質の生理活性を検討する。

②正常子宮内膜、各分化型子宮体癌組織の糖蛋白質糖鎖発現のレクチンアレイ分析



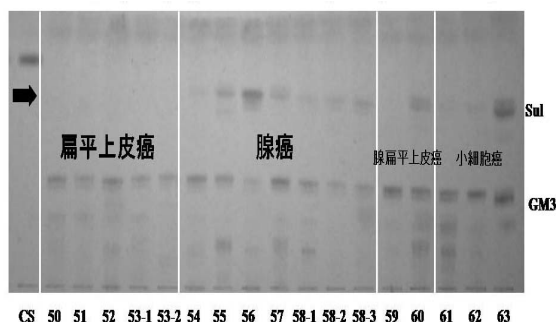
レクチンアレイを用いることで正常子宮内膜と体癌との鑑別、体癌の中で高分化型と低分化型との鑑別が可能であった（特許申請中）。さらに低分化型においては初期癌と進行癌の判別もレクチンアレイプロフィールパターンで可能であった。今後は、本検討をより精度の高いものにするためにレーザーマイクロダイセクション (LMD) を用いてサンプルの純度を上げ、中等度分化型癌例をレクチンアレイにて分類し、術後治療方針を決定するに際し苦慮する中等度分化型癌のレクチンアレイによる判別を行い臨床応用の

可能性を探る予定である。

(2)子宮頸癌における糖脂質糖鎖の発現と癌特性との関連

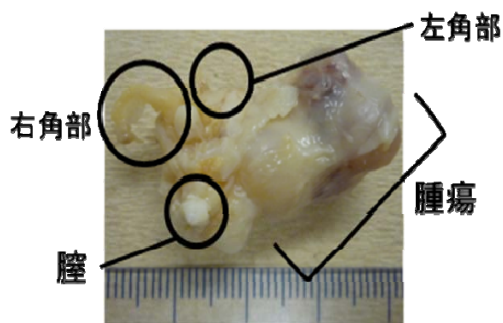
①各組織型頸癌における硫酸化糖脂質

(Sul)・糖鎖合成酵素の蛋白・mRNAの発現解析



頸癌では糖脂質の硫酸化は腺癌、小細胞癌でのみ観察された。その発現は体部腺癌と同様に CST の発現により調節されていた。CST 蛋白は免疫染色にて癌の浸潤先端部分に発現していた。本検討ではすでに硫酸化糖脂質発現に関して頸癌由来培養細胞についても行っており、次のステップとして、硫酸化糖脂質の発現量を調節した培養細胞を CST 遺伝子導入によって作成し、次に述べる頸癌正所移植ヌードラットモデルを用いて頸癌における硫酸化糖脂質の機能を明らかにする。

②頸癌由来培養細胞を用いた正所移植頸癌モデルの作成



当初はヌードマウスに外科的処置を加えることなく腔から細胞を移植することで頸癌モデルを作成することを試みたが、臓器が小さく画像解析が行いにくいためにヌードラットに対象を変え、さらに移植法を工夫することで頸部への癌細胞の着床・増殖・浸潤を確認できた(上写真)。今後糖鎖発現を調節した頸癌培養株を作成し、糖鎖が、癌の浸潤・転移などの特性にどのように関与しているのかを解析したい。

(3)分泌期子宮内膜に特異的に発現する硫酸化糖脂質と内膜機能との関連

NOG マウス腎に正常ヒト子宮内膜を移植し卵胞ホルモン及び黄体ホルモンを投与した内膜組織を採取した。同時に患者からの IC を得たうえで正常子宮分泌期内膜を採取中

である。今後、その組織をもちいて硫酸化糖脂質、合成分解酵素蛋白・mRNA 分析を行い、硫酸化糖脂質の内膜における機能を探る。

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 8 件)

- ①Miyazawa M, Mikami M (他 13 名、13 番目)、Granulosa cell tumor with activated mTOR-HIF-1 α -VEGF pathway, Journal of Obstetrics Gynaecology Research、査読有、vol.36、2010、448-453
- ②Tanaka K, Mikami M (他 4 名、2 番目)、Expression of α 2,6-sialic acid-containing and Lewis-active glycolipids in several types of human ovarian carcinomas, ONCOLOGY LETTERS、査読有、vol.1、2010、1061-1066
- ③Mikami M, Iwamori M (他 6 名、1 番目)、Induction of the differentiation of cultured endometrial carcinoma cells by type I collagen : Relevance of sulfolipids, ONCOLOGY LETTERS、査読有、vol.1、2010、113-117
- ④Miyazawa M, Mikami M (他 11 名、12 番目)、Association of hypoxia-inducible factor-1 expression with histology in epithelial ovarian tumors: a quantitative analysis of HIF-1, Archives of Gynecology and Obstetrics、査読有、vol.279、2009、789-796
- ⑤Hirabayashi K, Mikami M (他 5 名、7 番目)、Clear cell adenocarcinoma arising from adenomyosis, International Journal of Gynecological Pathology、査読有、vol.28、2009、262-266
- ⑥Miyazawa M, Mikami M (他 11 名、12 番目)、Therapeutic strategy targeting the mTOR-HIF-1 α -VEGF pathway in ovarian clear cell adenocarcinoma, Pathology International、査読有、vol.59、2009、19-27
- ⑦Hirabayashi K, Mikami M (他 8 名、9 番目)、Alterations in Mucin Expression in Ovarian Mucinous Tumors : Immunohistochemical Analysis of MUC2, MUC5AC, MUC6, and CD10 Expression, Acta Histochemica et Cytochemica、査読有、vol.41、2008、15-21
- ⑧Iida T, Mikami M (他 8 名、10 番目)、Hypoxic status in ovarian serous and mucinous tumors: Relationship between histological characteristics and HIF-1 α /GLUT-1 expression, Archives of Gynecology and Obstetrics、査読有、

〔学会発表〕（計9件）

- ①杉山太朗、レクチンアレイを用いた着床期子宮内膜に発現する糖蛋白糖鎖の検索、第62回日本産科婦人科学会学術講演会、2010年4月23日、東京国際フォーラム
- ②西島義博、レクチンアレイを用いた子宮内膜・子宮体癌（高分化型・低分化型）に発現する糖蛋白糖鎖の検索、2010年4月24日、東京国際フォーラム
- ③西島義博、レクチンアレイを用いた子宮内膜・子宮体癌（高分化型・低分化型）に発現する糖蛋白糖鎖の検索、第69回日本癌学会学術総会、2010年9月24日、大阪国際会議場
- ④杉山太朗、子宮頸部腺癌ではスルファチドの発現が亢進している、第69回日本癌学会学術総会、2010年9月24日、大阪国際会議場
- ⑤Y. Nishijima、DETECTION OF SUGAR CHAINS OF GLYCOPROTEINS EXPRESSED BY NORMAL ENDOMETRIUM AND UTERINE ENDOMETRIAL CANCER (WELL-DIFFERENTIATED AND POORLY-DIFFERENTIATED) WITH THE LECTIN ARRAYS、13th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society、2010年10月25日、Prague
- ⑥T. Sugiyama、ENHANCED EXPRESSION OF SULFATIDES IN THE WELL-DIFFERENTIATED TYPE OF HUMAN ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA、13th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society、2010年10月25日、Prague
- ⑦杉山太朗、レクチンアレイを用いた子宮内膜・子宮体癌に発現する糖蛋白糖鎖の探索、第49回日本臨床細胞学会秋期大会、2010年11月22日、神戸ポートピアホテル
- ⑧杉山太朗、高分化型内膜腺癌では硫酸化脂質の合成・発現が亢進している、第61回日本産科婦人科学会学術講演会、2009年4月4日、国立京都国際会館
- ⑨杉山太朗、高分化型類内膜子宮体癌ではスルファチドの発現が亢進している、第68回日本癌学会学術総会、2009年10月1日、パシフィコ横浜

〔図書〕（計2件）

- ①三上幹男、他、メジカルビュー社出版、講義録 産科婦人科学、2009、1-491
- ②三上幹男、他、メジカルビュー社出版、OGS NOW No. 6、2010、70-81

〔産業財産権〕

○出願状況（計2件）

名称：子宮体癌の診断方法
発明者：三上幹男、梅澤明弘

権利者：東海大学

種類：特許

番号：特願 2010-158575

出願年月日：2010年7月13日

国内外の別：国内

名称：METHOD FOR DIAGNOSING ENDOMETRIAL
CANCER

発明者：三上幹男、梅澤明弘

権利者：東海大学

種類：特許

番号：13/014946

出願年月日：2011年1月27日

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.u-tokai.ac.jp/daigakuin/pdf/mikami.pdf>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三上 幹男 (MIKAMI MIKIO)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：30190606

(2) 研究協力者

岩森 正男 (IWAMORI MASAO)

近畿大学・理工学部・教授

研究者番号：90110022

梅澤 明弘 (IWAMORI MASAO)

国立成育医療センター研究所・研究部・部長

研究者番号：70213486

宮澤 昌樹 (MIYAZAWA MASAKI)

東海大学・医学部・研究員

後藤 優美子 (GOTO YUMIKO)

東海大学・医学部・大学院

西島 義博 (NISHIJIMA YOSHIHIRO)

東海大学・医学部・大学院

杉山 太朗 (SUGIYAMA TARO)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：90439696

池田 仁恵 (IKEDA MASAE)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：20365993

信田 政子 (SHIDA MASAKO)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：10338717

平澤 猛 (HIRASAWA TAKESHI)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：70307289

村松 俊成 (MURAMATSU TOSHINARI)
東海大学・医学部・准教授
研究者番号：90266437