

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18194

研究課題名（和文）子宮内膜異型増殖症を発生母地とした類内膜腺癌の新規病態発生機構の解明

研究課題名（英文）A Novel Pathogenesis Mechanism of Endometrial Adenocarcinoma with Endometrial atypical proliferation as the place of origin

研究代表者

岡田 匡氷（Okada, Tadahi）

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：30867453

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：子宮体癌は類内膜腺癌や漿液性腺癌などの様々なタイプがあり、類内膜腺癌は子宮体癌の80%以上を占める組織型である。類内膜腺癌は、癌細胞の増殖に密接な関与がみられるリーキー型タイト結合分子claudin-2を高発現し、子宮内膜異型増殖症を発生母地として考えられている。本研究ではclaudin-2の高発現調節機構の解析を行い、子宮内膜異型増殖症から類内膜癌への発癌過程を解明し、また治療ターゲットとしての可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、リーキータイプのタイトジャンクションタンパク質であるCLDN-2の過剰発現が、ヒト子宮内膜腺癌の悪性化に密接に寄与していることを初めて明らかにした。またこのダウンレギュレーションが上皮のバリアを上昇させ、子宮内膜がん細胞の細胞増殖だけでなく、細胞移動や細胞浸潤も抑制し、新規治療薬の標的になりうることを示された。

研究成果の概要（英文）：There are various types of uterine cancer, including endometrial adenocarcinoma and serous adenocarcinoma, with endometrial adenocarcinoma being the histologic type that accounts for more than 80% of uterine cancers. Endometrial adenocarcinoma is thought to originate from endometrial atypical proliferation due to high expression of claudin-2, a leaky tight-binding molecule that is closely related to cancer cell growth. In this study, we analyzed the regulatory mechanism of claudin-2 expression and elucidated the carcinogenic process from endometrial atypical hyperplasia to endometrial carcinoma.

研究分野：産婦人科学

キーワード：タイト結合 シグナル伝達 claudin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜異型増殖症は、前癌状態であり単純型子宮内膜異型増殖症と複雑型子宮内膜異型増殖症に分類される。そして癌化のリスクが高く、単純型で約 10%、複雑型で約 30%とされている。さらに子宮内膜異型増殖症との診断で子宮を切除した場合、すでに癌が並存する確率は 20-50%とされ、新たな治療方法が望まれている。

子宮内膜癌は、いくつかのタイト結合分子の発現異常が報告されている。特に組織型により子宮内膜癌 type II (seropapillary) ではタイト結合膜貫通分子 claudin-1 が、type I である類内膜癌(endometrioid)では claudin-2 の高発現が知られているが、そのメカニズムおよび役割については分かっていない。さらに claudin-2 の発現は子宮内膜増殖症の一部の腺上皮細胞において局在の変化がみられる。Claudin-2 は発現により透過性が亢進するリーキー型 claudin として知られ、肺癌では癌細胞の増殖への関与が考えられている。具体的には、claudin-2 をノックダウンさせると細胞周期調節因子である ZO-1 associated nucleic acid binding protein (ZONAB)の発現量が低下して G1 期の細胞が増加していた。これらの機構は、類内膜癌においても十分考えられる。

一方、子宮内膜の成熟には腺上皮細胞と間質細胞の相互作用が重要である。子宮内膜異型増殖症を発生母地とした類内膜癌の発生過程においても、間質細胞の関与が十分考えられる。さらに重度の子宮内膜症でみられる線維化における線維芽細胞からの増殖因子の関与も考えられる。

2. 研究の目的

確立したヒト正常子宮内膜上皮細胞および間質細胞(Someya et al., 2013)、claudin-2 を高発現している子宮内膜癌細胞株(Sawano)を用いて、claudin-2 の発現調節機構の解明を行い子宮内膜異型増殖症からの類内膜癌の発生過程を解明し治療につなげる。

癌細胞の代謝については、以前より糖代謝異常(ワールブルク効果)が知られている。最近、細胞外フラックスアナライザーの進歩により、癌の種類による代謝異常の違い、さらに様々な組織のがん幹細胞の代謝の特徴などが多く報告されるようになってきた。本研究においても、正常細胞と癌細胞の代謝の違いを示し、claudin-2 の発現異常による子宮内膜癌細胞の代謝の変化を測定する。癌細胞の代謝のデータは、癌患者の全身状態および新規治療法を考える上でも今後非常に重要と考えられ、役割を多面的に解明していく。

3. 研究の方法

(1)ヒト剖検材料を用いて子宮内膜症、前癌病変を含めた子宮内膜癌における claudin-2 の発現および局在の変化を形態学的悪性度(EMT マーカー:Snail, ZEB, Twist)とともに比較検討する。

(2)癌細胞の claudin-2 の高発現の発現調節機構の解明のために、手術材料より継代可能な正常子宮内膜上皮細胞を分離培養する。そして、確立された正常子宮内膜上皮細胞を用いて、子宮内膜上皮細胞における claudin-2 の役割を解明する。

(3)claudin-2 を高発現している癌細胞株(Sawano)を用いて、claudin-2 の癌細胞の上皮バリア機能および増殖、浸潤、遊走における役割を解明する。

(4)正常子宮内膜上皮細胞および子宮内膜癌細胞株(Sawano)を用いて、claudin-2 の発現調節機構を細胞内シグナルおよび糖代謝の面から解析する。具体的には、様々な細胞内シグナル阻害剤、グルコース取り込み阻害剤、高あるいは低グルコース培地をそれぞれ処置し、claudin-2 の発現・局在変化と細胞増殖抑制の変化を比較検討する。

(5) claudin-2 を高発現している子宮内膜癌細胞株(Sawano)を用いて、抗腫瘍効果のあるヒストン脱アセチル化酵素(Histone Deacetylase:HDAC)阻害剤を処置して claudin-2 の発現・局在変化と細胞増殖抑制の変化を比較検討する。

(6)癌は代謝疾患の一つであることにより、癌細胞の代謝への影響を調べる。具体的には細胞外フラックスアナライザー(XFe Series)を用いて、正常および癌細胞におけるグルコース代謝、ミトコンドリア呼吸代謝の変化を培養液中のグルコース濃度変化、グルコース取り込み阻害剤(2-DG)、HDAC 阻害剤処置後に解析する。

4 . 研究成果

本研究では、リーキータイプのタイトジャンクションタンパク質である CLDN-2 の過剰発現が、ヒト子宮内膜腺癌の悪性化に密接に寄与していることを初めて明らかにした。claudin-2 を高発現している子宮内膜癌細胞株(Sawano)を用いて調べた結果、CLDN-2 のダウンレギュレーションは、上皮のバリアーを上昇させ、子宮内膜がん細胞の細胞増殖だけでなく、細胞移動や細胞浸潤も抑制した。

また高 glucose 培地処置をすることにより claudin-2 は低下し、上皮バリアおよび細胞遊走の亢進、細胞浸潤の低下することを解明した。

子宮内膜腺癌細胞株に HDAC 阻害剤 tricostain A および HDAC1 特異的阻害剤処置をしたところ、癌細胞の浸潤、遊走および増殖の明らかな抑制がみられ、その変化は要領依存性であった。また癌細胞の代謝への影響を調べるため、細胞外フラックスアナライザー(XFe Series)を用いて、癌細胞におけるミトコンドリア呼吸代謝において、高 glucose 培地による亢進、低 glucose 培地による低下を確認できた。

以上より子宮内膜癌における高発現が癌の悪性化に密接に関与すると考えられた。また HDAC 阻害剤処置による claudin-2 の抑制は子宮内膜癌治療において重要な役割を果たすと考えられ、またこれが新規治療薬の標的になりうることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tadahi Okada	4. 巻 27(1)
2. 論文標題 Possibility of Targeting Claudin-2 in Therapy for Human Endometrioid Endometrial Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reproductive Sciences	6. 最初と最後の頁 2092-2103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s43032-020-00230-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------