様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成　24 年　6 月　21 日現在

機関番号：24303
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2010～2011
課題番号：22791540
研究課題名（和文）　組織マイクロアレイを用いた子宮肉腫における分子標的マーカーの同定

研究課題名（英文）　Identification of molecular targeting markers of uterine carcinosarcoma by tissue microarray slides

研究代表者
澤田　守男（SAWADA MORIO）
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：60573748

研究成果の概要（和文）：本研究は、子宮体部癌肉腫の多数例を用いた組織マイクロアレイで EGFR および HER-2 発現についての網羅的検索を行い、子宮体部癌肉腫診療における分子標的マーカーとなり得るかどうか検討した。間葉成分で EGFR の強発現が高頻度に認められ、上皮成分においては悪性度が高くなるほど EGFR 発現が増強する可能性が示された。一方、HER-2 の発現は本検討ではほとんど認められなかった。以上より、子宮体部癌肉腫において EGFR が診断や治療の分子マーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We comprehensively analyzed EGFR and HER-2 overexpression in uterine carcinosarcoma by tissue microarray slides to investigate whether EGFR and HER-2 oncoproteins are molecular targeting markers of uterine carcinosarcoma. EGFR oncoprotein tended to be overexpressed strongly in the mesenchymal component, and overexpression of EGFR oncoprotein tended to increase proportionally to the grading of endometrioid adenocarcinoma increase in the epithelial component. This study may suggest that EGFR oncoprotein is a molecular targeting marker of uterine carcinosarcoma.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
22 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
23 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総　計	1,500,000	450,000	1,950,000

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：癌・病理学・トランスレーショナルリサーチ

１．研究開始当初の背景

子宮肉腫は、子宮に発生する悪性腫瘍の 3%を占める間葉系腫瘍である。発生頻度・発生母地によって 3 種類に大別できる。子宮内膜上皮を起源とする癌肉腫（子宮肉腫全体の約 50%）、子宮平滑筋を起源とする平滑筋肉腫（15～25%）、子宮内膜間質細胞を母地とする内膜間質肉腫（約 10%）である。子宮肉腫の大半が悪性度の高い難治性腫瘍で有効な治療法は未だ確立できていない。実際、5 年生存率は癌肉腫で 18～39%、平滑筋肉腫も 1, 2 期をあわせて 40～50%と予後不良である。い

ずれも再発率が高く、従来の化学療法や放射線療法では効果が不十分であるため、分子標的薬剤等による有効な追加治療の確立が待たれている。近年、種々のがんにおいて多数のがん遺伝子の発現が同定されつつあり、各々のがん遺伝子に関して特異的な分子標的薬剤やモノクローナル抗体療法が開発され、実際臨床に応用され効果を発揮しつつある。しかし、子宮肉腫に対する免疫組織化学的・分子病理学的な研究は少なく、子宮肉腫における特定の分子マーカーの同定までには至っていない。
子宮体部癌肉腫は、単一の上皮性悪性腫瘍細胞から発生するという“Single cell theory”が主流となりつつある。我々は、上皮性悪性腫瘍細胞が癌肉腫へ分化する過程で上皮成分と間葉成分に枝分かれした後、上皮成分では HER-2 を過剰発現するのに対して、間葉成分では EGFR や KIT を過剰発現する傾向を持つことを示した。また、子宮平滑筋肉腫において EGFR が非常に高頻度に過剰発現を呈しており、また EGFR と KIT が有意に共発現する傾向にあることを示した。つまり子宮平滑筋を起源とする平滑筋肉腫においては、癌肉腫の間葉成分で認められたのと同様の傾向が認められた。また、子宮内膜間質細胞に由来するとされる内膜間質肉腫においては、EGFR の過剰発現が高頻度に認められているが、平滑筋肉腫とは異なり KIT 発現とは相関せず過剰発現も認められない。KIT・EGFR・HER-2 の発現パターンに様々な様相をみせており、全く異なる組織発生の分子機構が考えられる。この免疫組織化学的傾向は、これまで有効な手立てが存在しなかった子宮肉腫に対する分子標的治療に結びつく可能性がある知見と考えられる。

２．研究の目的
子宮肉腫はさまざまの治療に抵抗し、未だに予後が極めて悪い疾患である。本研究では、多数の子宮肉腫手術症例のデータベースを利用して腫瘍の組織マイクロアレイを作製し、がん関連遺伝子などの発現異常や遺伝子増幅を網羅的に調べ、子宮肉腫における分子標的マーカーを同定することを目的とする。

３．研究の方法
研究対象は、1997～2010 年に治療を行った子宮体部癌肉腫症例 55 例。学内倫理委員会の承認を得て、手術切除標本のパラフィン包埋ブロックから上皮成分と間葉成分のコンポーネント別に組織マイクロアレイを作製。それを薄切して、EGFR と HER-2 タンパク発現を免疫組織化学的に検討した。
子宮癌肉腫・上皮成分の EGFR タンパク発現の強度を以下の図 1 のように、そして子宮癌肉腫・間葉成分の EGFR タンパク発現の強度を図 2 のように評価した。

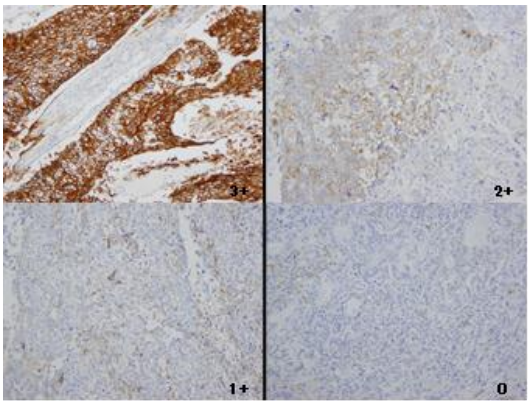

図 1. 子宮癌肉腫・上皮成分の EGFR タンパク発現の強度

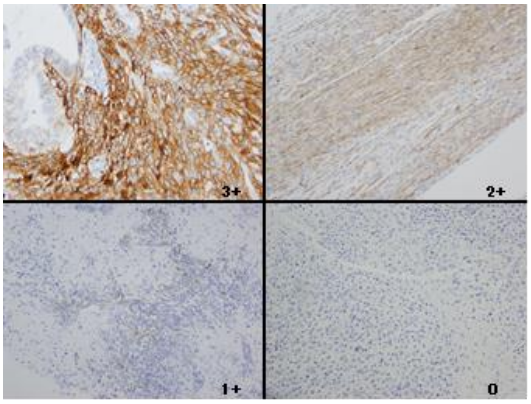

図 2. 子宮癌肉腫・間葉成分の EGFR タンパク発現の強度

４．研究成果
上皮成分のうち EGFR が+2 以上の発現を示したのは、類内膜腺癌では G1 で 18.2%、G2 で 33.3%、G3 で 75.9%であり、グレードの上昇と共に発現が増強する傾向にあった。また、漿液性腺癌では 37.5%であった（表 1, 2）。肉腫成分における EGFR 陽性例は 73.1%（+1 が 17.9%、+2 が 25.6%、+3 が 29.5%）であり、肉腫成分では EGFR タンパクの過剰発現傾向があることが示唆された（表 1, 2）。
HER-2 に関して+2 以上の発現を示した部分はなかった。
組織マイクロアレイを用いた本検討では、間葉成分で EGFR の強発現が高頻度に認められ、上皮成分においては悪性度が高くなるほど EGFR 発現が増強する可能性が示された。
一方、HER-2 の発現は本検討ではほとんど認められなかった。以上より、子宮体部癌肉腫において EGFR が診断や治療の分子マーカーとなる可能性が示唆された。
今後は FISH 法を用いて遺伝子増幅の解析を行い、臨床データとの相関を検討する予定である。EGFR が子宮癌肉腫の分子標的マーカーと確定できれば、診断や治療の臨床研究に進

展することが可能となる。

	No. of CS components	No. of EGFR-overexpressed components by IHC (%)				P
		0	1+	2+	3+	
Epithelial component of CS						
Normal endometrial epithelium	21	14 (66.7)	5 (23.8)	2 (9.5)	0 (0.0)	
Endometrioid, G1	22	12 (54.5)	6 (27.3)	3 (13.6)	1 (4.5)	
Endometrioid, G2	30	15 (50.0)	5 (16.7)	8 (26.7)	2 (6.7)	
Endometrioid, G3	29	6 (20.7)	1 (3.4)	14 (48.3)	8 (27.6)	
Serous + Carcinoma	20	11 (55.0)	2 (10.0)	4 (20.0)	3 (15.0)	
Mesenchymal component of CS						
Normal endometrial stroma	22	4 (18.2)	18 (81.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Sarcoma	78	21 (26.9)	14 (17.9)	20 (25.6)	23 (29.5)	

表 1. 子宮癌肉腫における上皮成分・間葉成分別の EGFR タンパク発現の分布

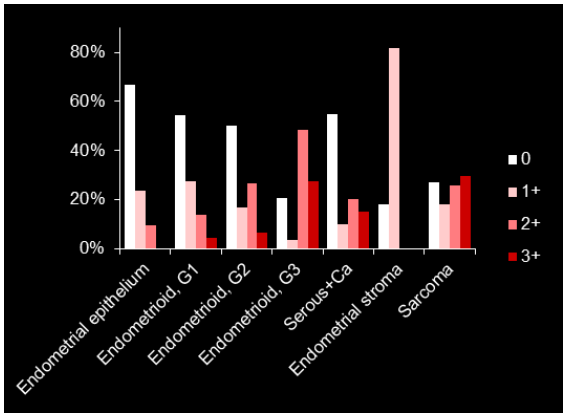

表 2. 子宮癌肉腫における上皮成分・間葉成分別の EGFR タンパク発現の割合

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 9 件）

①竹原也恵、森泰輔、澤田守男、黒星晴夫、辰巳弘、岩破一博、北脇城、当院における婦人科悪性腫瘍手術時の創閉鎖の工夫と検討、産婦人科の進歩、査読有、64 巻、2012、101－125

②松尾精記、森泰輔、澤田守男、黒星晴夫、辰巳弘、岩破一博、北脇城、子宮頸部リンパ上皮腫様癌の 1 例、産婦人科の進歩、査読有、63 巻、2012、32－35

③Uehara T, Onda T, Togami S, Amano T, Tanikawa M, Sawada M, Ikeda S, Kato T, Kasamatsu T. Prognostic impact of the history of breast cancer and of hormonetherapy in uterine carcinosarcoma. Int J Gynecol Cancer 22:280-285, 2012、査読有

④Yamagami T, Tanaka O, Yoshimatsu R, Miura H, Ochiai T, Otsuji E, Sawada M, Soh J, Nishimura T. Percutaneous drainage with a one-step technique under real-time computed tomography fluoroscopic guidance. Hepatogastroenterology 59:701-704, 2012、査読有、
doi: 10.5754/hge11590.

⑤ Sawada M, Tochigi N, Sasajima Y, Hasegawa T, Kasamatsu T, Kitawaki J. Primary extraskeletal myxoid chondrosarcoma of the vulva. J Obstet Gynaecol Res 37:1706-1710, 2011、査読有、
doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01559.x.

⑥Mori T, Sawada M, Kuroboshi H, Tatsumi H, Katsuyama M, Iwasaku K, Kitawaki J. Estrogen-related receptor α expression and function are associated with vascular endothelial growth factor in human cervical cancer. Int J Gynecol Cancer 21:609-615, 2011、査読有

⑦山本拓郎、澤田守男、黒星晴夫、辰巳弘、森泰輔、岩破一博、北脇城、外陰癌根治術後の外陰部再建に臀溝皮弁を用いた 1 例、産婦人科の進歩、査読有、63 巻、2011、33－36

⑧澤田守男、卵巣境界悪性腫瘍の治療方針（Q&A）、産婦人科の進歩、査読無、62 巻、2010、312－313

⑨Mori T, Hosokawa K, Sawada M, Kuroboshi H, Tatsumi H, Koshiba H, Okubo T, Kitawaki J. Neoadjuvant weekly carboplatin and paclitaxel followed by radical hysterectomy for locally advanced cervical cancer: long-term results. Int J Gynecol Cancer 20:611-616, 2010、査読有

〔学会発表〕（計 26 件）

①澤田守男、津田均、笠松高弘、北脇城、子宮体部癌肉腫における EGFR および HER2 発現　組織マイクロアレイを用いた検討、第 64 回日本産科婦人科学会、2012.4.13、日本、神戸

②Mori T, Sawada M, Kuroboshi H, Tatsumi H, Iwasaku K, Kitawaki J. Neoadjuvant Weekly Carboplatin and Paclitaxel followed by Radical Hysterctomy for locally advanced cervical cancer - long term result. 2nd Biennial Meeting of Asian Society of Gynecologic Oncology. 2011.11.4, 韓国、ソウル

③ Sawada M, Tochigi N, Sasajima Y, Hasegawa T, Ishikawa M, Kasamatsu T, Kitawaki J. Primary extraskeletal myxoid chondrosarcoma of the vulva: a case report. 2nd Biennial Meeting of Asian Society of Gynecologic Oncology. 2011.11.4, 韓国、ソウル

④鍔本浩志、竹内聡、豊田進司、澤田守男、井上佳代、宮木康成、伊藤公彦、卵巣 再発婦人科癌に対する docetaxel 腹腔内投与の第 I 相臨床試験-KCOG-0601-、第 49 回日本

癌治療学会、2011.10.27、日本、名古屋
⑤澤田守男、角美奈子、笠松高弘、恩田貴志、加藤友康、池田俊一、石川光也、喜多川亮、勝俣範之、北脇城、伊丹純、進行子宮頸がんに対する同時化学放射線療法の後方視的検討、第 63 回日本産科婦人科学会、2011.8.30、日本、大阪
⑥澤田守男、栃木直文、笹島ゆう子、長谷川匡、石川光也、笠松高弘、北脇城、外陰部に発生した原発性骨外性粘液様軟骨肉腫の 1 例、第 50 回日本婦人科腫瘍学会、2011.7.24、日本、札幌

６．研究組織
(1)研究代表者
澤田　守男（SAWADA MORIO）
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：60573748

(2)研究分担者
（　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
（　　）

研究者番号：