

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592497

研究課題名(和文) 婦人科悪性腫瘍の形質に与えるRNA結合蛋白質ZFP36の役割の解明

研究課題名(英文) Biological role of ZFP36 in gynecologic malignancies

研究代表者

保坂 昌芳 (Hosaka, Masayoshi)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：20374390

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：RNA結合タンパクであるZFP36、IMP3の頸部上皮内新生物(CIN)、浸潤癌(SCC)における発現を免疫組織化学的に検討した結果、CIN1/2に比べて、CIN3/SCCでZFP36の発現が減弱、IMP3の発現が亢進する傾向が確認された。ついで、HPV-16陽性で病変の消退、進展が明らかとなっている例について、ZFP36、IMP3の発現を検討した結果、IMP3の発現が病変の進展と正の相関を示すことが明らかとなった。したがって、子宮頸部細胞診や組織診の際にIMP3の発現を免疫細胞/組織化学的に評価することで、個々の患者の病変の進展リスクを推測でき、個別化管理に応用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We aimed to examine the expression of RNA-binding proteins (IMP3 and ZFP36) in HPV-16-positive cervical intraepithelial neoplasia (CIN), and squamous cell carcinoma (SCC), and investigate whether their expression is correlated with disease progression of CIN2/3. Immunohistochemistry showed that higher expression of IMP3, lower expression of ZFP36 was more frequently observed in CIN3 and SCC than CIN1/2. Among CIN2/3, cases with higher IMP3 expression progressed to higher-grade lesions, whereas cases with lower IMP3 expression did not progress. We conclude that increased expression of IMP3 and/or reduced expression of ZFP36 may play a role in HPV-16-related cervical carcinogenesis. Immunohistochemical expression of IMP3 might be a useful marker to predict progression of HPV16-positive CIN2/3 to higher-grade lesions.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：cervical cancer CIN HPV ZFP36 IMP3

## 1. 研究開始当初の背景

本邦では、子宮頸癌検診率が他の先進諸国に比べ著しく低いレベルにとどまっており、近年、若年層における子宮頸癌罹患率の急激な増加が認められ、妊孕能温存を希望するにも関わらず病状の進行によってそれを断念せざるを得ない症例に遭遇する機会も増加している。子宮頸癌の原因が HPV の持続感染であることが明らかにされ、子宮頸部では 15 種 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 型) が癌化と関連するハイリスク型とされ、特に 16, 18 型は子宮頸癌で最も多く検出されている。HPV 持続感染の中で 10%程度が高度異形成に進展し、さらにその中で 30%程度が浸潤癌に進展する。ハイリスク型 HPV の中でも特に 16, 18 型が子宮頸癌への進展と密接な関連があり、他の HPV 型よりも癌への進展率が高いことが示されている。本邦でも子宮頸癌予防ワクチンの接種が可能となったが、予防できる子宮頸癌は HPV16, 18 型によるものだけである。また、既に持続感染し異形成や浸潤癌が認められる場合の治療薬剤は存在しないため、実地臨床では高度異形成・上皮内癌 (併せて CIN3: cervical intraepithelial neoplasia3) あるいは浸潤癌に対しては外科的治療を行う必要がある。CIN3 に対しては、子宮頸部円錐切除術や子宮頸部焼灼術が施行され、浸潤癌に対しては子宮摘出が必要になる。近年の若年層における子宮頸癌罹患率の急激な増加によって妊孕能温存を考慮すべき症例が増加している点を勘案した場合、仮に異形成の段階で治療を開始して妊孕性 (子宮) の温存が可能となったとしても、子宮頸部円錐切除術によって子宮頸管長の短縮が起るために、その後妊娠が成立した場合でも妊娠期間中の流産の危険性が有意に高まるため、それに対して子宮頸管縫縮術などの外科的介入、流産予防のための子宮収縮抑制剤の使用や入院期間の長期化などの問題が生じる。また、不幸にも早産が起こってしまった場合

には、早産児の集中治療管理には莫大な医療費が投入されることになり、医療経済的な側面からも異形成のさらなる至適管理法の確立は大変重要な課題であるといえる。

CIN 管理の実臨床における現状では、軽度異形成 (CIN1) は自然消失することが大部分であり細胞診のみで経過観察とすることが多い。中等度異形成 (CIN2) の CIN3 以上への進展率も高くなく、細胞診、コルポスコピー、組織診で経過観察とすることが一般的である。CIN2 以下の病変から CIN3 あるいは浸潤癌への進展の要因を明らかにすることが臨床的に重要である。HPV16, 18 型の感染例に他の HPV 型の感染に比べて CIN3、浸潤癌への進展例が有意に多いことが示されていることから、腫瘍側因子として HPV 型判定検査を行うことはその後の病変の進展を予測するために重要である。しかし、HPV16, 18 型感染例の中でも進展をしない例が存在するのも事実であることから、異形成から浸潤癌への進展に関与する腫瘍側因子とともに、宿主側因子について基礎的、臨床的に検討することが急務である。

mRNA の 3' 非翻訳領域 (UTR) に結合して遺伝子発現を調節するものとして、PNA 結合タンパクである ELAV や ZFP36、microRNA などに関する研究が盛んに行われている。ELAV は標的遺伝子の 3' UTR に結合して RNA の安定化 (分解抑制) に関与すると考えられている。一方、ZFP36 は RNA の分解促進作用を有する RNA 結合タンパク質であり、現在まで様々なサイトカインの発現を調節することが報告され、近年、様々な悪性腫瘍の発生に関与するとの報告が散見されるようになってきている。現在まで、婦人科悪性腫瘍の発現過程における役割を詳細に検討した報告はほとんどみあたらないが、ZFP36 の発現低下が子宮頸癌の発生に関与する可能性があること、ZFP36 が HPV の発癌作用において最も重要な E6 蛋白質の分解に関与する E6-AP ubiquitin ligase の発現調節を介して HPV に

よる子宮頸部上皮の悪性転化を抑制しうるとの報告がなされていることから、子宮頸部上皮の悪性化の過程において ZFP36 が関与しており、HPV16, 18 の感染例の中で ZFP36 の発現が認められる例については病変の進展が遅い可能性があるのではないかとの発想に至った。したがって、ZFP36 が子宮頸癌の進展抑制因子であることを、免疫組織化学的手法を用いて正常扁平上皮から異形成を経て浸潤癌に進展する過程の中で ZFP36 の発現の変化が認められるかについて検討し、ZFP36 が子宮頸癌の進展における新規分子マーカーとなる可能性について明らかにする。

われわれの仮説が証明されれば、HPV-DNA の検出・型別解析、局在解析とともに、ZFP36 の発現を細胞診断あるいは組織診断に応用することで HPV 感染例の管理の個別化に寄与する可能性があること、ZFP36 による子宮頸癌の進展抑制作用が示された場合には、ZFP36 を治療標的とした新しい子宮頸癌治療薬の開発につながる基礎的データを得られる可能性があること、それを妊孕性の温存を希望する若年女性において適用することができれば、現在標準的に行っている異形成病変に対する円錐切除術とそれに伴う妊娠時の流産の回避につながり、医療経済的にも大きなメリットをもたらすことが将来的に期待される。

## 2. 研究の目的

ハイリスク型 HPV の中でも特に 16, 18 型が子宮頸癌への進展と密接な関連が示されているものの、持続感染例のすべてが癌へ進展するわけではないことから、進展抑制機構が存在することが推察される。本研究計画においては RNA 結合タンパクである ZFP36、IMP3 に着目し、臨床検体を用いた免疫染色法による発現解析により、子宮頸癌の進展機構における ZFP36、IMP3 の関与について明らかにするとともに、それらが将来的に子宮頸癌の治療標的分子となりうるかについての基礎的

検討を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

HPV16 型の感染が確認されている異形成組織、浸潤扁平上皮癌組織を用いて、ヒト ZFP36、IMP3 特異的抗体を用いた免疫組織染色を施行した。ZFP36、IMP3 の発現は染色強度と染色範囲で判定した。それらのタンパクの発現状況および病変の進展、退縮との関連についても検討した。

## 4. 研究成果

RNA 結合タンパクである ZFP36、IMP3 の頸部上皮内新生物 (CIN)、浸潤扁平上皮癌 (SCC) における発現を免疫組織化学的に検討した結果、CIN1/2 に比べて、CIN3/SCC で ZFP36 の発現が減弱、IMP3 の発現が亢進する傾向が確認された。ついで、HPV-16 陽性で病変の消退、進展が明らかとなっている例について、ZFP36、IMP3 の発現を検討した結果、IMP3 の発現が病変の進展と正の相関を示すことが明らかとなった。したがって、子宮頸部細胞診や組織診の際に IMP3 の発現を免疫細胞/組織化学的に評価することで、個々の患者の病変の進展リスクを推測でき、個別化管理に応用できる可能性が示唆された。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

1. 嶋田知沙、保坂昌芳、渡利英道、山口正博、福本 俊、遠藤大介、井平 圭、金野陽輔、加藤達矢、工藤正尊、水上尚典、櫻木範明  
「子宮頸部異形成 (CIN) の進展と IMP3、ZFP36 発現との関連について」第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会 2015. 4. 10 ~12、パシフィコ横浜 (横浜市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

保坂 昌芳 (HOSAKA MASAYOSHI)  
北海道大学・北海道大学病院・助教  
研究者番号：20374390

(2) 研究分担者

渡利 英道 (WATARI HIDEMICHI)  
北海道大学・北海道大学病院・講師  
研究者番号：10344508

櫻木 範明 (SAKURAGI NORIAKI)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：70153963