

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659736

研究課題名(和文)子宮体癌幹細胞形質獲得機構の解明と幹細胞マーカーの同定

研究課題名(英文)Identification of endometrial cancer stem cell markers

研究代表者

加藤 聖子(Kato, Kiyoko)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10253527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円、(間接経費) 780,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では子宮体癌細胞株を用いて癌幹細胞形質獲得機構における精巣特異的発現遺伝子dbpC/contrin(以下dbpC)の関与を解析した。まず、子宮体癌細胞株Ishikawa(IK)細胞株にdbpC発現ベクターを形質導入し、過剰発現株(IK-dbpC細胞)を樹立した。IK-dbpC細胞はmockに比べて幹細胞マーカーALDH1の発現亢進と、SP細胞の出現率増加をみとめた。Microarray解析でmockに比べIK-dbpC細胞、IK-dbpC-SP細胞ともに1つの精巣癌抗原(CTA)の発現が亢進していた。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the association with dbpC/contrin(dbpC) and the character of endometrial cancer stem cells. We designed and constructed a cytomegarovirus vector containing dbpC cDNA, and transfected it into Ishikawa(IK) cells, an endometrial cancer cell line. The expression of ALDH1 was increased in IK-dbpC cells, compared to mock cells, and the ratio of SP cells were more than 10-fold in IK-dbpC cells compared to mock cells. Downregulation of dbpC expression was remarkably reduced the ALDH1 expression and the rate of SP cells, compared to negative control. Microarray analysis showed that one of the cancer/testis antigens was up-regulated in IK-dbpC cells compared with mock cells.

研究分野：医歯薬学

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 癌幹細胞

1. 研究開始当初の背景

最近、様々な癌で幹細胞の存在が報告されている。我々は Hoechst33342 の取り込みの低い分画の細胞 (SP 細胞) を用いて正常子宮内膜や子宮体癌細胞株 Hec1 に SP 細胞が存在し、幹細胞の性質を示すことを報告した (K Kato et al. Hum Reprod. 2007, K Kato et al. Am J Pathol)

しかし、SP 細胞の出現率は各子宮体癌細胞株によって異なっており、癌幹細胞形質獲得機構の詳細は不明である。

Y-box-binding protein は human cold-shock domain protein superfamily の仲間 で dbpA, dbpB/YB-1, dbpC が含まれる。dbpC は、精巣や卵巣の胚細胞に発現し核内転写因子や細胞質での RNA 結合蛋白として機能していると考えられている。また、胚細胞腫瘍、大腸癌にも発現しており癌精巣抗原の性質を持つと推察されている (Khono Y et al. Br J Cancer 2006)。

2. 研究の目的

本研究では、SP 細胞の出現率が低かった子宮体癌細胞株 Ishikawa (IK) 細胞に、dbpC を形質導入した細胞株を樹立し (IK-dbpC 細胞) 未分化性を獲得し幹細胞としての特性を示すかどうかを検討するとともに子宮体癌幹細胞と非幹細胞の間で発現に差がある遺伝子群を網羅的にアレイで検索し、癌幹細胞のマーカーを同定することを目的とする。

3. 研究の方法

1) 内因性 dbpC/contrin の発現のみられない子宮体癌細胞株 Ishikawa (IK) 細胞株に dbpC 発現ベクターを形質導入し、過剰発現株 (IK-dbpC 細胞) を樹立した。

2) IK-dbpC 細胞の幹細胞マーカー ALDH1 の発現と side-population (SP) 細胞の出現率を解析した。siRNA で dbpC の発現を抑制し、それぞれの変化を解析した。

3) Microarray 解析を行い、dbpC 発現細胞と非発現細胞間で発現量に差がある遺伝子群の

解析を行った。

4) ノードマウスに IK-dbpC 細胞、IK-dbpC SP 細胞と mock 細胞を皮下注射し造腫瘍能の検討を行った。

6) 発現が亢進した遺伝子について同意を得た子宮体癌 (endometrioid, carcinosarcoma) 100 例の検体を用いて組織型、進行期、予後との相関の検討を行った。

4. 研究成果

(1) IK-dbpC 細胞は mock 細胞に比べて幹細胞マーカー ALDH1 の発現が亢進し、約 10 倍の SP 出現率をみとめた。dbpC-siRNA により抑制すると SP 出現率と ALDH1 の発現は低下した。

(2) IK-dbpC-SP 細胞は長期増殖能を示し再解析により 25% と高率の SP 細胞の再出現をみとめた。

(3) マウスに IK-dbpC を皮下注射し、腫瘍形成能について調べたところ、腫瘍能は mock 細胞と比較して低かった。

(4) Microarray 解析で mock 細胞に比べ IK-dbpC 細胞では癌精巣抗原 X の発現が約 1000 倍亢進していた。

(5) 子宮体癌症例において、低分化、臨床進行期が進むほど癌精巣抗原 X の発現頻度が高くなる傾向を認めた。

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 12 件)

(1) Yusuf N, Inagaki T, Kusunoki S, Okabe H, Yamada I, Matsumoto A, Terao T, Takeda S, Kato K: SPARC was overexpressed in human endometrial cancer stem-like cells and promoted migration activity. Gynecol Oncol. (in press)(査読あり)

(2) Kusunoki S, Kato K, Tabu K, Inagaki T, Okabe H, Kaneda H, Suga S, Terao Y, Taga T, Takeda S: The inhibitory effect of salinomycin

on the proliferation, migration and invasion of human endometrial cancer stem-like cells. *Gynecol Oncol*. 2013 Jun;129(3):598-605.

(3)Takeuchi T, Ohishi Y, Imamura H, Aman M, Shida K, Kobayashi H, Kato K, Oda Y: Ovarian transitional cell carcinoma represents a poorly differentiated form of high-gradeserous or endometrioid adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2013; 37(7): 1091-1099

(4)Yoneda T, Kuboyama A, Kato K, Ohgami T, Okamoto K, Saito T, Wake N:Association of MDM2 SNP309 and TP53 Arg72Pro polymorphisms with risk of endometrial cancer. *Oncol Rep*. 2013;30(1): 25-34, 2013

(51)加藤聖子、楠木総司:
がん幹細胞を標的とする治療法の開発 産婦人科の実際 62(3):289-295,2013

(6)Takao T, Asanoma K, Tsunematsu R, Kato K, Wake N:The maternally expressed gene Tssc3 regulates the expression of Mash2 transcription factor in mouse trophoblast stem cells through the Akt-Sp1 signaling pathway. 2012; *J Biol Chem*.287(51):42685-42694

(7) Kato K, Kusunoki S, Inagaki T, Yusuf N, Suga S, Terao Y, Arima T, Tsukimori K, Takeda S: Side-population cells derived from non-tumorigenic rat endometrial cells are a candidate cell of origin for malignant endometrial tumors. *J Stem Cell Res Ther*. 2012;doi:10.4172/2157-7633.S7-003

(8) Fukushima K, Tsukimori K, Li D, Takao T, Morokuma S, Kato K, Seki H, Takeda S, Matsumura S, Wake N: Effect of transient TCDD exposure on immortalized human trophoblast-derived cell lines. *Hum Exp Toxicol*. 2012;31(6):550-556

(9)Kato K: Stem Cells in Human Normal Endometrium And Endometrial Cancer Cells: Characterization of Side-Population Cells.

Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 28(2), 63-71, 2012

(10) Kato K:Endometrial cancer stem cells: a new target for cancer therapy. *Anticancer Res*. 32(6),2283-2293,2012

(11)加藤聖子:
[子宮体癌の生物学的特性から診断、治療まで] 癌遺伝子と癌幹細胞
産科と婦人科, 79 (2):203-208.2012

(12)加藤聖子:
[婦人科悪性腫瘍の治療開発とそのシーズ]子宮体癌・癌幹細胞の関連分子を標的とした治療法の開発
産婦人科の実際, 61(2):235-243, 2012

[学会発表](計 4 件)

(1)加藤聖子:子宮体がん幹細胞の生物学的特性の解析.日本内分泌学会学術総会.2014.4.25(福岡市)

(2)Kiyoko Kato:Development of new cancer therapy by targeting endometrial cancer stem cells. The 72nd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. 2014.10.3.(Yokohama)

(3)加藤聖子:子宮内膜、子宮体癌幹細胞の同定と生物学的特性の解析.日本内分泌学会九州地方会. 2013.8.24.(沖縄)

(4)加藤聖子:子宮体癌幹細胞の同定と新規治療法開発の試み.関東産科婦人科連合学会. 2013.6.16.(東京)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 聖子 (KATO KIYOKO)
九州大学大学院医学研究院 教授
研究者番号：10253527