

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861503

研究課題名(和文) 子宮体癌におけるEMT機構の解明とこれを標的とする新たな内分泌療法の意義の確立

研究課題名(英文) Function of Estrogen related receptor alpha in endometrial cancer

研究代表者

森 泰輔 (Mori, Taisuke)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00569824

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)：本研究ではエストロゲン関連受容体(ER)が及ぼす上皮間葉転換現象について検討した。ERは一部の細胞株ではE-cadherinを減弱させたが、間葉マーカーの発現は変化させなかった。血管新生増殖因子VEGFの発現および転写活性を促進し、血管新生を誘導することを明らかにした。ERRaが新たな治療ターゲットとなりうる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether estrogen-related receptor (ER) alpha influences epithelial-mesenchymal transition in uterine endometrial cancer. ER alpha inactivated E-cadherin expression in one of endometrial cancer cell lines, however, it did not change the expression other mesenchymal markers, such as, N-cadherin and vimentin. Instead, ER alpha stimulate VEGF expression and transcriptional activity leading to induce angiogenesis in endometrial cancer. These data suggest ER alpha could be a novel target for the endometrial cancer.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：ホルモン依存性腫瘍 子宮体癌

## 1. 研究開始当初の背景

近年、子宮体癌の罹患率は増加している。子宮体癌の危険因子とされる肥満、糖尿病、食事の欧米化、晩婚化、出産回数の低下に加え、高齢化などの社会的背景を考慮すると今後さらにその罹患率は増加すると予測される。

子宮体癌の腫瘍学的特徴で最も重要な点はホルモン依存性であり、その増殖や発癌にエストロゲンが深く関与する。エストロゲンと結合したエストロゲン受容体(ER)はプロモーター上のエストロゲン応答(ERE)配列を認識することで、増殖や発癌に関与するさまざまな遺伝子の転写を制御する。乳癌ではエストロゲン受容体拮抗剤やエストロゲン合成酵素阻害剤が著効し広く用いられているのに対し、子宮体癌における内分泌療法は未だ確立されておらず、より詳細なエストロゲン伝達機序の解明が求められている。リガンド未知のオーファン核内受容体として発見されたエストロゲン関連受容体(ER)はERと非常に類似した構造を有するがEREやhalf site ERE(ERRE)を認識し、ERのEREを介した作用に対して促進/抑制的に働くことでエストロゲン応答を制御すると報告されている。

ERはこれまでに $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の3種のサブタイプが発見され、それぞれに特徴的な発現様式をとる。研究代表者らはこれまでに子宮体癌においてER $\alpha$ がER $\alpha$ を介するエストロゲン応答を抑制することを見出した。また近年ER $\gamma$ は子宮体癌において予後不良因子であることを明らかにし、ER $\gamma$ をターゲットとした治療が新たな内分泌療法となりうる可能性について示した平成23-24年度若手研究B)。このように研究代表者らはERが婦人科癌における増殖や進展に深く関与することを見出し、世界に先駆けて報告している。近年、漸増する子宮体癌の中で病変が子宮外に及ぶような浸潤や転移を認める期および期の5年生存率はそれぞれ37.5%、8.5%と進行例での予後は依然不良であり、浸潤転移メカニズムを解明し新たな治療法を模索することは重要なテーマとなっている。上皮間葉転換(epithelial to mesenchymal transition; EMT)は腫瘍細胞の細胞-細胞間接着の喪失から上皮としての特性を失い周辺組織に移動しやすい間葉系細胞としての特徴を獲得する現象であり、腫瘍の浸潤および転移の引き金を引く重要なイベントとして注目されている。

## 2. 研究の目的

細胞接着に関与する代表的な分子であるE-cadherinはEMTの獲得に伴ってその発現が抑制されることよりEMTの最も重要な指標とされている。本研究ではERにより誘導されるEMT現象について検討し、子宮体癌における浸潤転移機構への関与を明らかにする。また、浸潤機構について代表的な血管新生因子であるVEGFに注目し、ERが及ぼす影響を明らかにする。

## 3. 研究の方法

- 1) ER過剰発現/抑制によるEMT制御因子調節機構について発現転写活性の観点から明らかにする。
- 2) ER過剰発現/抑制による遊走能や浸潤能に及ぼす影響を解析する。
- 3) 正常子宮内膜および体癌組織におけるEMT制御因子の発現について免疫組織化学法を用いて解析し予後との関係について明らかにする。
- 4) VEGFプロモーター領域を同定し、ER過剰発現による転写活性を解析する。
- 5) VEGF発現レベルについて検討する。
- 6) 血管新生能についてヒト臍帯静脈内皮細胞を用いて検討する。

## 4. 研究成果

EMT制御機構を明らかにするため、代表的な上皮マーカーであるE-cadherinに着目し、ER $\alpha$ の及ぼす影響について検討した。E-cadherinのプロモーター領域にはER $\alpha$ の結合部位とされるERRE site(5'-AGGTCA-3')を含んでおり、その転写活性について検討した。またリアルタイムPCR法を用いて発現変化について検討した。結果、一部の細胞株(SNGII)では、E-cadherinの発現や転写活性の変化を認めた。間葉系マーカーであるN-cadherinやvimentinの発現変化について検討したが、著明な変化を認めなかった。その機序については現在検討中である。

一方、血管新生の代表的な因子であるVEGFのプロモーター領域にはERRE siteが含まれていることがすでに報告されている。われわれはER $\alpha$ 過剰発現によりその発現および転写活性が有意に上昇していることを見出した。またsiRNAを用いてER $\alpha$ をknockdownさせたところ、VEGFの発現および転写活性は低下した。ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いて血管新生能を検討したところ、ER $\alpha$ 抑制時に有意に血管新生能は抑制された。以上より、ER $\alpha$ はVEGFの発現及び転写活性を制御することで強力な血管新生能を有することが明らかになった(現在投稿中)。

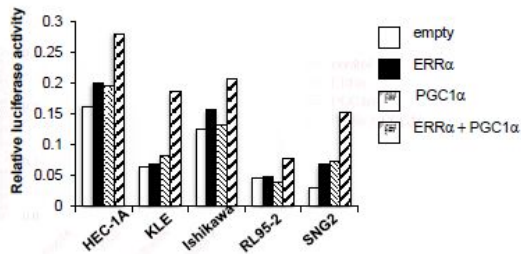


図1 VEGF プロモーター転写活性

また、ERR $\alpha$ のコアクチベーターとされる PGC-1 $\alpha$  についての作用についても検討した。エストロゲン依存性疾患として知られる子宮内膜症について解析した。ERR $\alpha$ そのものは作用しなかったが、PGC1 $\alpha$ 過剰発現下では局所のアロマターゼ発現が著明に上昇することを明らかにした。またこれはアロマターゼプロモーターI.3/II に直接的に結合し発現を制御することで局所エストロゲン生合成に関与していると示唆された(論文)。

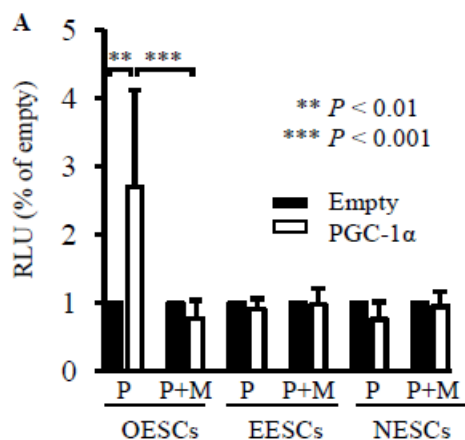


図2 子宮内膜症におけるアロマターゼ転写活性

## 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13件)

Yamamoto T, Mori T, Sawada M, Matsuhima H, Ito F, Akiyama M, Kitawaki J  
Loss of AF-6/afadin induces cell invasion, suppresses the formation of glandular structures and might be a predictive marker of resistance to chemotherapy in endometrial cancer. 査読有  
BMC Cancer. 2015 in press. doi: 10.1186/s12885-015-1286-x

Mori T, Ito F, Matsushima H, Takaoka O, Koshiba A, Tanaka Y, Kusuki I, Kitawaki J  
Dienogest reduces HSD17b1 expression and activity in endometriosis. 査読有  
J Endocrinol 2015 in press. doi: 10.1530/JOE-15-0052.

Mori T, Ito F, Matsushima H, Takaoka O, Tanaka Y, Koshiba A, Kusuki I, Kitawaki J  
G protein-coupled estrogen receptor 1 agonist G-1 induces cell cycle arrest in the mitotic phase, leading to apoptosis in endometriosis. 査読有  
Fertil Steril 2015 in press. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.026.

Ijichi S, Mori T, Suganuma I, Yamamoto T, Matsuhima H, Ito F, Akiyama M, Kusuki I, Kitawaki J  
Clear cell carcinoma arising from cesarean section scar endometriosis; case report and review of literature. 査読有  
Case Rep Obstet Gynecol 2014; 2014: 642483 doi: 10.1155/2014/642483.

Suganuma I, Mori T, Takahara T, Torii H, Fujishiro M, Kihira T, Urabe Y, Urabe M, Kitawaki J.  
Autoamputation of a pedunculated, subserosal uterine leiomyoma presenting as a giant peritoneal loose body. 査読有  
Arch Gynecol Obstet 2015; 291-951-953. doi: 10.1007/s00404-014-3580-2.

Sasaki A, Akita K, Ito F, Mori T, Kitawaki J, Nakada H.  
Difference in mesothelin-binding ability of serum CA125 between patients with endometriosis and epithelial ovarian cancer. 査読有  
Int J Cancer 2015; 126: 1985-1990. doi: 10.1002/ijc.29185.

Suganuma I, Mori T, Ito F, Tanaka Y, Sasaki A, Matsuo S, Kusuki I, Kitawaki J  
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha enhances local estrogen biosynthesis by stimulating aromatase activity in endometriosis. 査読有  
J Clin Endocrinol Metab 2014; 99: 1191-1198 doi: 10.1210/jc.2013-2525.

Ito F, Tatsumi H, Mori T, Suganuma I, Tanaka Y, Sasaki A, Matsuo S, Iwasa K, Kitawaki J  
Medroxyprogesterone acetate enhances monocyte-endometrial interaction under flow conditions by stimulating the expression of cell adhesion molecules. 査読有  
J Clin Endocrinol Metab 2014; 99: 2188-2197. doi: 10.1210/jc.2013-2925

Akiyama M, Suganuma I, Mori T, Kusuki I, Kuroboshi H, Ito F, Matsushima H, Sawada H, Kitawaki J.

18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomotherapy/computed tomography-positive lymph node endometriosis masquerading as lymph node metastasis of a malignant tumor. 査読有 Case Rep Obstet Gynecol 2014; 2014: 648485 doi: 10.1155/2014/648485

Kataoka H, Mori T, Yamamoto T, Sawada M, Kuroboshi H, Tatsumi H, Iwasaku K, Kitawaki J Outcome of Fertility-sparing treatment with medroxyprogesterone acetate for atypical hyperplasia and endometrial carcinoma in young Japanese women. 査読有 Eur J Gynecology Oncology 2014; 35: 11-15

Matsui K, Mori T, Sawada M, Kuroboshi H, Tatsumi H, Yoshioka T, Akiyama M, Yamamoto T, Iwasaku K, Kitawaki J Evaluation of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor for epithelial ovarian cancer. 査読有 Eur J Gynecology Oncology 2014; 35: 48-52

Yamamoto T, Mori T, Matsushima H, Sawada M, Kitawaki J Late, isolated metastasis from poorly differentiated gastric cancer to the uterine cervix. 査読有 Gynecol Oncol Case Rep 2014; 8: 17-20 doi: 10.1016/j.gynor.2014.01.002.

阿部万祐子, 森 泰輔, 澤田守男, 黒星晴夫, 辰巳 弘, 澤田守男 タキサン/プラチナ両薬剤に過敏反応を示し治療に難渋した進行卵巣癌の1例 日本婦人科腫瘍学会雑誌 査読有 2014; 32: 241-246.

〔学会発表〕(計13件)

森 泰輔, 他  
パクリタキセルは婦人科腫瘍原発巣に有効だがリンパ節には効かない  
2014.4.18 日本産科婦人科学会 東京  
菅沼 泉, 森 泰輔, 他  
Stimulation of aromatase by PPAR gamma, coactivator 1, alpha enhances local estrogen biosynthesis in endometriosis.  
2013.4.18 日本産科婦人科学会 札幌、International session award candidate  
山本拓郎, 森 泰輔, 他  
ERRgamma regulated estrogen receptor alpha in uterine endometrial cancer  
2013.4.20 日本産科婦人科学会、札幌

高得点演題

森 泰輔  
婦人科悪性腫瘍手術における皮下持続陰圧吸引ドレーンの有効性と安全性の検討  
2013.8.10 Wound closure seminar 札幌  
招聘講演

森 泰輔, 他  
Efficacy of vacuum assisted closure in wound care management of patients with gynecological cancer  
2013.12.13 ASGO、京都

森 泰輔, 他  
Dysadherin は EMT 現象に関与する卵巣癌予後因子である  
第66回日本産科婦人科学会学術講演会  
2014.4.19 札幌

松島 洋, 森 泰輔, 他  
Estrogen-related receptor alpha は子宮体癌の血管新生能と細胞増殖能を促進する  
第66回日本産科婦人科学会学術講演会  
2014.4.20 ミニワークショップ、東京

森 泰輔, 他  
当院で経験した子宮頸部乳頭状扁平上皮癌4例の臨床像と細胞病理学的検討  
日本臨床細胞学会春期大会  
2014.6.7 横浜

塚崎菜々美, 森 泰輔, 他  
局所進行子宮頸癌に対する組織内照射併用CCRTの治療経験  
日本産科婦人科学会京都地方部会  
2014.10.18 京都

山本拓郎, 森 泰輔, 他  
子宮体癌における接着因子の役割  
京都婦人科腫瘍フォーラム  
2014.11.21 京都

森 泰輔, 他  
GPR30アゴニストG-1は子宮内膜症細胞におけるアポトーシスを誘導する  
2015.1.10 日本生殖内分泌学会 大阪

高岡 宰, 森 泰輔, 他  
ジエノゲストの子宮内膜症由来間質細胞におけるエストロゲン生合成に及ぼす影響  
2015.1.10 日本生殖内分泌学会 大阪

森 泰輔, 他  
GPR30アゴニストG-1は子宮内膜症細胞におけるアポトーシスを誘導する  
2015.1.25 日本エンドメトリオーシス学会 東京 優秀演題賞

〔図書〕(計2件)

子宮体癌におけるエストロゲン関連受容体の意義と役割  
森 泰輔, 北脇 城  
山口内分泌研究進行財団 内分泌に関する最新情報 2014年10月 1-5

ドレーンの使い方(よりよい婦人科手術のための器具の使い方)

森 泰輔、北脇 城  
Obstetrics and Gynecologic Surgery now.  
2014; no18: 168-178.

〔産業財産権〕  
出願状況（計 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 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
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

森 泰輔 (MORI TAISUKE)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号：00569824

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：