

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18691

研究課題名(和文) エストロゲンによる子宮体癌細胞の異方向分化誘導とその分子生物学的機序の解明

研究課題名(英文) Estrogen regulates squamous metaplasia in the endometrial cancer

研究代表者

寺川 純平 (Terakawa, Jumpei)

金沢大学・学際科学実験センター・助教

研究者番号：90777731

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：子宮体癌において、癌進展に伴う扁平上皮化生の誘導が、PTEN欠損を有するヒト臨床検体とマウス病態モデルの両者に共通して認められることから、PTENを欠損した癌細胞では癌の進展を抑制する異方向への分化・成熟誘導機構が存在するのではないかと考え、扁平上皮化生誘導の機序の解明を目指した。子宮体癌を自然発症する子宮特異的PTEN欠損マウスでは、濃度依存的なエストロゲンの作用によって扁平上皮化生が強く誘導されることが明らかになった。またこの変化は、本来重層扁平上皮には分化しない子宮内膜上皮において、PTEN欠損細胞の存在下で重層扁平上皮に分化可能な細胞集団が出現し、増殖した結果であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、子宮内膜においてPTENを欠損した上皮細胞が存在する環境下では本来の分化経路から逸脱した細胞集団が出現するという新しい知見を含んでおり、子宮体癌での微小環境変化を理解する上で重要な学術的意義があると考えられる。また、今後癌患者での病態解明や扁平上皮化生の誘導制御といった治療法開発にも結びつくと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Squamous metaplasia is found in both endometrial cancer patients and the mouse model which carries PTEN inactivation. We found that squamous metaplasia is developed in estrogen-dependent manner by the investigation of animal models. We further demonstrated that a small number of precursor cells which can differentiate into the stratified epithelium arises under the environment with existence of PTEN inactivated epithelial cells.

研究分野：生殖生物学

キーワード：子宮体癌 扁平上皮化生 エストロゲン マウスモデル

## 1. 研究開始当初の背景

子宮体癌では、癌抑制遺伝子である *PTEN* の機能欠損変異が最も多い。*PTEN* 変異を有するヒト子宮体癌症例において、癌病巣の扁平上皮化生により癌の進展が抑制されたと思われる症例が存在し、また子宮体癌を発症する子宮特異的 *Pten* 欠損マウスでは、癌の進展に伴い癌病巣に強く扁平上皮化生が誘導されることで癌死を免れている可能性を見出した。これらの癌病巣では、本来起こるはずのない細胞の分化経路の転換が生じていることから、*PTEN* を欠損した癌細胞では癌細胞の進展を抑制する異方向への分化・成熟誘導機構が存在するとの新しい概念を発想するに至った。加えて、この現象はエストロゲンの作用により誘導されることが明らかになった。本研究では子宮特異的 *Pten* 欠損マウスを「エストロゲンによる癌細胞の異方向分化誘導モデル」と捉え、異方向分化を誘導する責任因子と機序の解明を目指した。

## 2. 研究の目的

本研究は、*PTEN* を欠損した癌細胞では細胞の異方向への分化・成熟を誘導する機構が存在するとの新しい仮説に立脚し、異方向分化を誘導する責任因子の同定と機序の解明を目的とした。

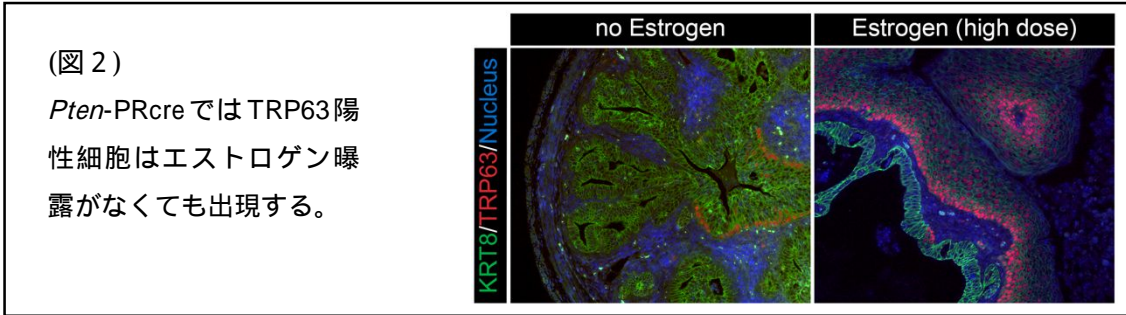
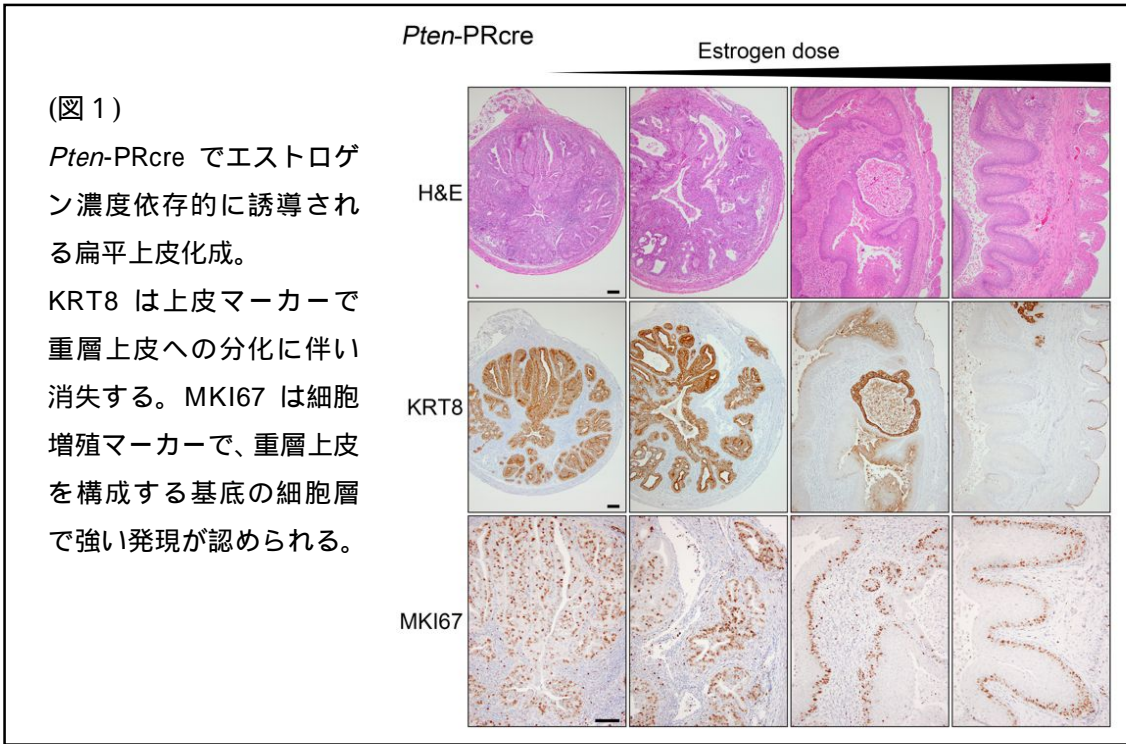
## 3. 研究の方法

本研究では、子宮体癌を自然発症する子宮特異的 *Pten* 欠損マウス (*Pten-PRcre*) と前癌状態を示す子宮上皮特異的 *Pten* 欠損マウス (*Pten-LTFcre*) を用いた。卵巣除去と微量なエストロゲンを徐放するシリコンインプラントを用いた実験系により、扁平上皮化生を誘導するエストロゲン濃度を検討し、それによる細胞や組織の形態変化と遺伝子発現変化を調べた。また、細胞追跡実験及び組織再構成実験により扁平上皮化生の誘導機構を調査した。一方で、本来単層上皮から重層上皮への分化が起こるマウス胎子の腔組織を用いた解析より、細胞分化に重要な因子と経路の同定を行った。

## 4. 研究成果

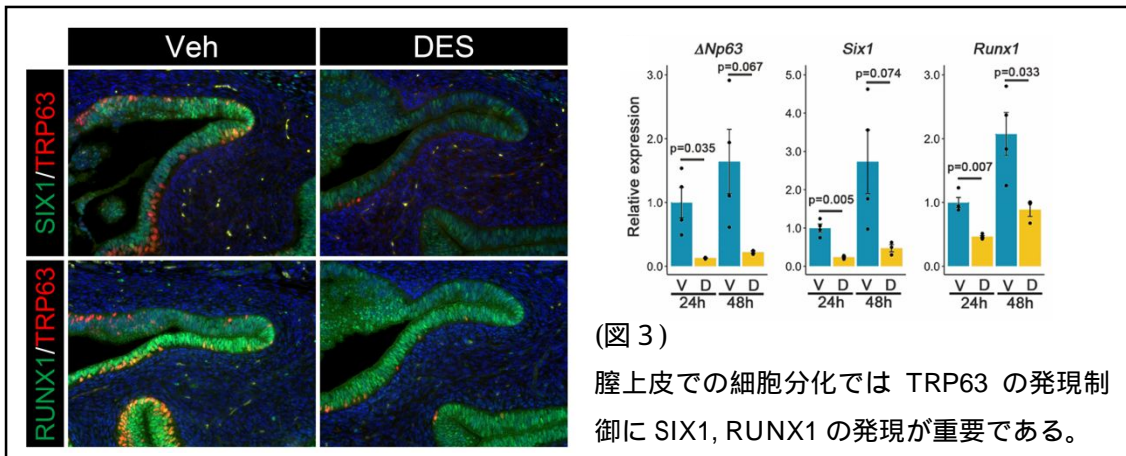
(1) 濃度依存的なエストロゲンが *PTEN* 欠損子宮上皮で扁平上皮化を誘導する。

*Pten-PRcre* と *Pten-LTFcre* において、子宮上皮の過形成が生じる時点において卵巣除去を行い、血中濃度が生理的エストロゲン濃度となるよう長期暴露を行なった結果、*Pten-PRcre* では濃度依存的に扁平上皮化生が強く誘導されることが明らかになった (図1)。*Pten-LTFcre* では高濃度でのみ、一部に扁平上皮化生が誘導された。重層扁平上皮の分化に必須である転写因子 *TRP63* の発現を調べたところ、扁平上皮化生を起こした組織では、腔組織と同じ *TRP63* のアイソフォーム ( $\Delta Np63$ ) を発現していた。また濃度依存的なエストロゲン暴露により、*TRP63* 陽性細胞は基底膜に沿って急速に拡大していたが、一方でエストロゲンが枯渇した状態 (卵巣除去のみ) においても、少数の *TRP63* 陽性細胞集団が認められた (図2)。このことから、扁平上皮化生の誘導は、まず重層扁平上皮に分化可能な前駆細胞が出現し、その後エストロゲンによる急激な細胞増殖が起こることにより発生すると考えられた。発生における腔組織での重層扁平上皮の分化には間葉からのシグナル伝達が必要であるが、遺伝子発現解析及び組織再構成実験からは間葉からのシグナル活性は認められなかった。子宮体癌で認められる扁平上皮化生では、*PTEN* を欠損した上皮細胞集団による微小環境変化が本来の分化経路から逸脱した細胞の出現を引き起こす可能性が考えられる。



( 2 ) 膣組織での細胞分化では転写因子の発現量依存的な制御が重要である。

ミュー管上皮から重層扁平上皮である膣上皮に分化する際、間葉からの TGF- $\beta$ シグナルおよび FGF シグナル伝達経路の活性化が必須である。遺伝子改変マウスを用いた子宮・膣組織の解析から、発生における膣上皮の分化において、分化に必須な転写因子 TRP63 の発現制御に新たに転写因子 SIX1 が重要であることを明らかにした。SIX1 は間葉からの TGF- $\beta$ シグナルにより発現が制御されており、ほかの転写因子 (RUNX1) と協調して働くことが示唆された。また、合成エストロゲン (DES) 暴露による膣上皮の分化異常モデルにおいて、SIX1 は合成エストロゲンの標的となることを明らかにした (図 3)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kofuji S et al.	4. 巻 21
2. 論文標題 IMP dehydrogenase-2 drives aberrant nucleolar activity and promotes tumorigenesis in glioblastoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1003-1014
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41556-019-0363-9	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 該当する

1. 著者名 Matsuoka A, Mizumoto Y, Ono M, Kagami K, Obata T, Terakawa J, Maida Y, Nakamura M, Daikoku T, Fujiwara H.	4. 巻 110
2. 論文標題 Novel strategy of ovarian cancer implantation: Pre invasive growth of fibrin anchored cells with neovascularization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2658-2666
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14098	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 該当する

1. 著者名 Terakawa J, Serna VA, Nair DM, Sato S, Kawakami K, Radovick S, Maire P, Kurita T	4. 巻 27
2. 論文標題 SIX1 cooperates with RUNX1 and SMAD4 in cell fate commitment of Mullerian duct epithelium	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell death and differentiation	6. 最初と最後の頁 3307-3320
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41418-020-0579-z.	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 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 寺川 純平, 井之上 幸範, 松岡 歩, 水本 泰成, 藤原浩, 大黒 多希子
2. 発表標題 マウスモデルを用いた子宮がん発生を制御する分子機構の解明
3. 学会等名 第55回北陸生殖医学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Editors: Joanne Kwak-Kim	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 220
3. 書名 Endometrial Gene Expression: An Emerging Paradigm for Reproductive Disorders	

〔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
研究協力者	大黒 多希子 (Daikoku Takiko)  (30767249)	金沢大学・学際科学実験センター・教授  (13301)	

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
---------	---------