

を照射した。非照射対照群はヒト肺組織4片をSCIDマウス2匹の左右下肢皮下に移植したものをを用いた。Isoflurane 麻酔器を用い全てを無菌箱の中で麻酔下で行ったため、固定によるマウスへの苦痛は最小限に抑えることができた。照射組織の解析は現在進行中である。露出した左右下肢と尾には照射群のみに皮膚の糜爛と潰瘍が認められた。マウス組織への影響についても解析中である。

D. 考察

移植継代維持できた胃がんに関しては、がん関連遺伝子の変異を調査する。また、ヒト正常肺への制癌剤、放射線の副作用（繊維化など）は治療上深刻な問題であり、インパクトは大きい。

E. 結論

消化器がん研究のため、各種消化器がん手術症例より22年度は胃がん、肝がんの適応症例を選択し、研究代表者により継代維持がなされた。化学療法、放射線治療の際の正常組織への副作用について調査するためSCIDマウスへ移植したヒト肺組織への影響研究システムを作成した。

F. 健康危険情報

特記すべきことはなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakajima Hiroo, Ozaki Kiyokazu, Hongyo Tadashi, Narama Isao, Todo Takeshi, A rapid and easy method for the qualitative detection of intracellular deposition of inhaled nanoparticles, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine (2011) ;xx:1-7, doi:10.1016/j. nano. 2011.02.004.

野村大成、梁 治子、足立成基、時田偉子、堀家なな緒、畑中英子、菊谷理絵、中島裕夫、本行忠志、藤川和男、伊藤哲夫、落合俊昌、行徳淳一郎、若命浩二。宇宙環境の人体影響評価と防護に関する研究。Space Util. Res. 27: 107-110 2011.

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得： なし
2. 実用新案登録： なし
3. その他： 特になし

消化器等一般外科手術組織の移植系の確立

研究分担者 本行忠志 大阪大学 准教授

研究要旨：H22 年度は化学療法、放射線治療の際の正常組織への副作用についての調査にとどまらず、副作用を軽減し得る薬剤を求めため、SCID マウスへ移植したヒト肺組織への影響調査と並行して、B6 マウスを使用して実験を行った。

A. 研究目的

がん放射線治療の晩発性障害として、照射部位やその周辺の組織に線維化が進行して、QOLの低下やがん化等が知られており、その線維化の制御は極めて意義の高いものとなる。そこで、マウスに放射線を照射するとともに、現在臨床で利用できる線維化を抑制すると考えられる薬剤を投与することにより、がん放射線治療や化学療法の際の正常組織の障害（線維化）を抑制する化学物質を同定することを目的とする。

B. 研究方法

実験(1) 部分照射：放射線に感受性の高いB6マウスに肺、肝、腎、（およびその照射野に存在する組織=皮膚等）にのみに（他の部位は遮蔽）分割照射(2Gyx10回, 2Gyx20回)、あるいは一括（1回）照射(10Gy, 15Gy, 20Gy)。

実験(2) 全身照射：B6マウスに5Gyまでの全身一括照射。

実験(3) プレオマイシン投与：肺の障害を比較するため、B6マウスにBLM投与。

実験(1)-(3)の放射線あるいはBLM投与前後に線維化抑制が期待される化学物質を投与、すべてにおいて経時的に体重測定や毛の観察を行い、一定期間の後、micro CT、採血、採尿等を施行し、各組織を採取した。

動物実験に関しは、医薬基盤研究所動物実験委員会および大阪大学医学系研究科動物実験委員会の承認のもと、ガイドラインに沿い、研修、登録のうえ、十分に動物愛護上の問題点に配慮し、研究をおこなっている。本行（分担）

C. 研究結果

実験(1)では総被曝線量が多くなるに従い、毛の脱顆粒（白髪）化、肺の硬化、腎や肝臓の萎縮、体重減少、致死、等が見られたが、それらはアスコルビン酸やAHCC（植物性多糖体）等で軽減された。

実験(2)では肺、腎、肝臓に差は見られなかったが、体重減少、胸腺・脾臓の重量およびリンパ球数減少が見られた。それらは、数種の薬剤により軽

減された。

実験(3)では各臓器の見かけ上の変化は少ないが、投与量が増えると肺の線維化が認められ、これも数種の薬剤により線維化抑制が見られた。

D. 考察

ヒト正常肺への制癌剤、放射線の副作用（線維化など）は治療上深刻な問題であり、インパクトは大きい。

E. 結論

B6マウスを使用して化学療法、放射線治療の際の正常組織への副作用およびその副作用の軽減のための薬剤について調査した。アスコルビン酸には多岐にわたって線維化抑制効果が認められた。

F. 健康危険情報

特記すべきことはなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Hongyo T, Nakajima H, T. Ascorbic acid suppresses hair depigmentation caused by irradiation. 14th International Congress of Radiation Research. Warsaw, Poland.2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：特になし

前立腺腫瘍、前立腺肥大組織の移植維持系の確立

研究分担者 野々村祝夫 大阪大学 教授

研究要旨：前立腺の臨床知見から悪性化に対するマクロファージ活性の関与について調査したところ、強い相関がみられた。この知見をもとにマクロファージ機能の低下した SCID マウスへの移植の成功が継代維持のキーポイントになる可能性がある。適切な前立腺がんおよび前立腺肥大症例を選択し移植したところ、前立腺がん1例は増殖し、前立腺肥大組織（2例）は長期維持された。これら疾患患者の血清 PSA 値と、マウス血清中のヒト PSA 値の相関がみられ、PSA 組織染色について検討した。「5 α reductase inhibitor (Dutasteride) の前立腺肥大症に対する直接的効果の評価」というテーマへ研究を展開できるものとする。

A. 研究目的

ヒト前立腺がんは、通常の SCID マウスやヌードマウスでは、移植後、増殖し難い。その原因について臨床的知見を得るとともに、SCID マウスへの移植、継代維持のための適切な前立腺肥大組織、がん組織を選択するとともに、前立腺がんおよび前立腺肥大症の臨床経過の指標となる PSA のヒト血中濃度が研究代表者野村らの実施している移植 SCID マウス血中 PSA 微量測定法の結果と対応していることを確認すると共に PSA 組織染色も行い、前立腺疾患治療薬の効果と安全性に資する。

B. 研究方法

前立腺がん、前立腺肥大手術臨床例について、前立腺および周辺組織の生体内での環境（免疫、ホルモン等）を臨床医学的に調査し、前立腺がんの発生、増殖に関与する因子を究明するとともに、得られた知見をもとに SCID マウスへの移植に適切な前立腺がん、前立腺肥大組織を選択する。

前立腺がんおよび前立腺肥大症患者の血清 PSA 値測定および組織染色を行い、移植 SCID マウスの血清中 PSA 値、組織染色との比較を行う。

（倫理面への配慮）ヒト前立腺組織および血清採取に当たっては、診断と治療に影響を与えない範囲での組織の利用とし、大阪大学医学部における臨床研究倫理審査委員会での承認を受けた上で採取組織の利用を行った。SCID マウスへの移植に関しては、医薬基盤研究所において、研究総括代表者・野村が総括報告書に記載した如く倫理委員会および動物実験委員会の承認を得て移植を行っている。

C. 研究結果

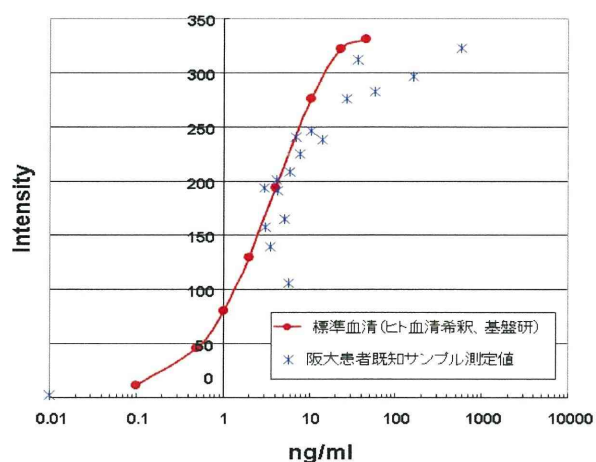
前立腺がん組織周囲への自然免疫関連細胞の浸潤は、癌細胞の増殖や癌の進展に深く関わっている事が最近示唆されている。前立腺癌の予後規定因子に関する研究で、免疫系細胞に関する研究は少ない。腫瘍周囲に浸潤する自然免疫細胞には、mast cell, tumor associated macrophage, macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cell などがある。このうち、MSR-positive cell の腫瘍周囲への浸潤が少ないほど予後不良の傾向を示すことが明らかになった。MSR-positive cell は癌細胞の進展に対して抑制的に作用している可能性が示唆された。

また、前立腺癌の診断には、必ず前立腺の組織検査としての前立腺生検が必要である。ところが、前立腺生検による診断効率はきわめて悪く、また一旦生検で「癌無し」と診断されても、false negative や腫瘍マーカーの上昇により再生検が必要となる事が少なくない。現在、患者に再生検を積極的に勧める有効な指標は無く、PSA という腫瘍マーカーの上昇にもっぱら依存している。この研究では、初回生検時に「癌無し」と診断されても、その生検組織内に macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cell の浸潤が少なければ、再生検で「癌あり」となる可能性が高くなることを示した。すなわち、前立腺組織への macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cell の浸潤は、癌の発生や増殖に対して抑制的に働いている可能性がこの研究で示唆された。これらの臨床知見に基づく前立腺癌および前立腺肥大症例の組織切除を行い、医薬基盤研究所において super SCID マウスへの移植のため譲渡した。前立腺肥大組織に関しては、テストステロン投与によって長期にわたる継代が可能となり、またその間の組織構築の維持が確認され、テストステロン付加が有効であると考えられた。

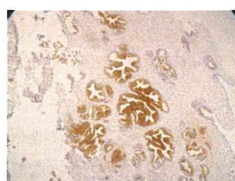
前立腺がん組織周囲へのマクロファージ等自

然免疫関連細胞の浸潤は、ホルモン療法後の癌細胞の進展に深く関わり、予後規定因子になっている事を報告した。これらの臨床知見に基づく前腺がん症例1例と前立腺肥大症例2例の切除を行い、医薬基盤研究所において、総括研究代表者がL P S 無反応の新らたなsuper SCIDマウスへ移植したところ、総括報告書に記載されているように臨床所見に合致して、前立腺がん組織は順調に増殖し、前立腺肥大組織の長期維持されている。テストステロンの付加の必要性も検討された。雌SCIDマウスには生着しなかった。

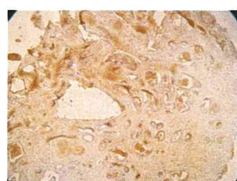
SCIDマウスへ移植した前立腺がん組織や肥大組織はSCIDマウス血中P S A値に対応し、組織染色によってもよく発現していた。



前立腺がん原発巣組織PSA染色 (Exp. 471)
患者血清PSA値: 3045 ng/ml



前立腺肥大症患者原発組織PSA染色
患者血清PSA値: 5.37 ng/ml



前立腺肥大組織SCIDマウス移植4日目PSA染色 (Exp. 548-D-1)

グラフは、基盤研にて、ヒトP S A標準液および患者血清を用い微量測定したものである。検量曲線(詳細は、総括研究報告書)は、0.5-50 ng 間ではほぼ直線を示し、その間では患者血清値は、ほぼ同等の値を示した。移植組織のP S A組織染色にても陽性であった。

D. 考察

移植した前立腺がん組織が組織形態を維持しえ

たのは、採取したがん組織がホルモン抵抗性癌であったため、男性ホルモン値が低くても影響がなかったことと、マクロファージ活性化の低下したSCIDマウスへの移植のためと考えられる。肥大組織が変性を示したのは、移植マウスの男性ホルモン値が不足したためと考えられた。

E. 結論

前立腺癌に対する前立腺全摘除術後の再発危険因子として、腫瘍マーカーであるPSA値や組織学的悪性度以外のものについての報告は少ない。手術の際に切除した骨盤内リンパ節組織中のVEGF(vascular endothelial cell growth factor)の発現を調べたところ、発現陽性症例では有意に高い再発率を認めた。同様に、前立腺全摘除術後の再発危険因子に関する研究として、診断時に採取した前立腺生検組織中に存在するMSR(macrophage scavenger receptor)陽性の炎症細胞数が少ない症例では予後不良であることが明らかとなり、マクロファージの関連が強く示唆された。従って、マクロファージ機能の低下したsuper SCIDマウスを用いたヒト前立腺組織移植系の確立は今後の薬剤効果の評価や研究に極めて重要であると考えられた。

前立腺がんの臨床知見からマクロファージ活性が前立腺がんの進展に大きく関与することを報告し、マクロファージ機能他、異物反応の低下した総括代表者の作成した特殊なSCIDマウスへの移植により成功したものである。前立腺がんおよび前立腺肥大症の臨床経過の指標となるP S Aが移植SCIDマウス中、移植組織でも検出され、マウス体内で前立腺がん、肥大組織がよく機能していることを示している。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takayama H, Nishimura K, Tsujimura A, Nakai Y, Nakayama M, Aozasa K, Okuyama A, Nonomura N. Increased infiltration of tumor associated macrophages is associated with poor prognosis of bladder carcinoma in situ after intravesical bacillus Calmette-Guerin instillation. J Urol. 181(4): 1894-1900, 2009.

2) Fujita K, Nakayama M, Nakai Y, Takayama H, Nishimura K, Ujike T, Nishimura K, Aozasa K, Okuyama A, Nonomura N. Vascular endothelial growth factor receptor 1 expression in pelvic lymph nodes predicts the risk of cancer progression after

radical prostatectomy. *Cancer Sci.* 100(6):1047-1050. 2009.

3) Nonomura N, Takayama H, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nakayama M, Tsujimura A, Nishimura K, Aozasa K, Okuyama A. Decreased infiltration of macrophage scavenger receptor-positive cells in initial negative biopsy specimens is correlated with positive repeat biopsies of the prostate. *Cancer Sci.* 101, 1570-1573, 2010.

4) Norio Nonomura, Hitoshi Takayama, Masashi Nakayama, Yasutomo Nakai, Atsunari Kawashima, Masatoshi Mukai, Akira Nagahara, Katsuyuki Aozasa and Akira Tsujimura. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU International*, 105: 1-5, 2011.

5) Hatano K, Miyamoto Y, Nonomura N, Kaneda Y. Expression of gangliosides, GD1a and sialyl paragloboside, is regulated by NF- κ B- dependent transcriptional control of α 2,3- sialyltransferase I, II and VI in human castration-resistant prostate cancer cells. *Int J Cancer*, 129:1837-1847, 2011.

6) Hatano K, Nonomura N, Nishimura K, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nakayama M, Takayama H, Tsujimura A, Okuyama A. Retrospective analysis of an oral combination of dexamethasone, uracil plus tegafur and cyclophosphamide for hormone-refractory prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 41(2):253-9, 2011.

7) Nonomura N, Takayama H, Nakayama M, Nakai Y, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Aozasa K, Tsujimura A. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int.* 107(12):1918-22, 2011.

8) 中井康友, 高山仁志, 野々村祝夫. 前立腺炎後の組織修復過程における骨髄由来細胞 (Bone marrow-derived cells) の役割についての検討. *泌尿器外科*, 24(8): 1235-1237, 2011.

9) 中井康友, 辻村晃, 野々村祝夫. 【前立腺癌(第2版)-基礎・臨床研究のアップデート-】 基礎前立腺癌のアンドロゲン非依存性進展 副腎ステロイドの役割(解説/特集) *日本臨床*, 69巻増刊5 前立腺癌: 112-116, 2011.

2. 学会発表

1) Masashi Nakayama, Kazutoshi Fujita, Atsunari Kawashima, Masatoshi Mukai, Akira Nagahara, Yasutomo Nakai, Hitoshi Takayama, Kazuo Nishimura, Katsuyuki Aozasa, Akihiko Okuyama, Norio Nonomura. Vegfr1 expression in pelvic lymph nodes predicts the risk of biochemical recurrence after radical prostatectomy. 99th Annual Meeting, The Journal of Urology, Chicago, April 26, 2009 (Vol. 181, Issue 4, Supplement, Page 99)

2) 高山仁志, 野々村祝夫, 河嶋厚成, 向井雅俊, 永原 啓, 芝 政宏, 岡 大三, 中井康友, 中山雅志, 井上 均, 西村和郎, 奥山明彦 初回生検陰性標本におけるMacrophage Scavenger Receptor (MSR) とTumor-associated Macrophage (TAM) の再生検指標の可能性の検討. 第97回日本泌尿器科学会総会, 岡山市。 2009年4月19日 *J Urol* 181(suppl 4) 99, 2009.

3) 野々村祝夫, 中井康友, 中山雅志, 西村和郎, 前立腺癌の発生と進展における炎症の影響 日本癌学会 第69回大会, 9. 22~24、大阪、2010

4) 野々村祝夫, 中井康友, 中山雅志, 西村和郎, 前立腺癌の発生と進展における炎症の影響 日本癌学会 第69回大会, 9. 22~24、大阪、2010

5) 野々村祝夫, 波多野浩士, 河嶋厚成, 向井雅俊, 永原啓, 中井康友, 中山雅志, 高山仁志, 木下竜也, 小林正雄, 井上均, 高田剛, 原恒男, 腎癌分子標的治療薬の neoadjuvantsettingによる使用経験 第98回日本泌尿器科学会総会4. 27-30、岩手、2010

6) 野々村祝夫, 永原啓, 中井康友, 中山雅志, 高山仁志, 奥山明彦, 木村泰典, 中村晃和, 三神一哉, 三木恒治, 難治性精巣腫瘍に対する大量化学療法 第98回日本泌尿器科学会総会 4. 27-30、岩手、2010

7) 野々村祝夫, 永原啓, 辻村晃, 西村和郎, 垣本健一, 中村晃和, 三神一哉, 本郷文弥, 木村泰典, 三木恒治, 進行性精巣腫瘍に対する化学療法後の射精神経温存後腹膜リンパ節郭清術 日本癌治療学会 第48回大会, 10. 28~30、京都、2010.

8) Takayama H, Hatano K, Satoh M, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nonomura N. Increased infiltration of mast cells infiltrating in non-malignant biopsy is associated with detection of prostate cancer. Annual Meeting of the American Urological Association, Washington DC, May 17,

2011.

9) Takayama H, Hatano K, Satoh M, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nonomura N. Increased number of mast cells infiltrating in non-malignant biopsy is associated with detection of prostate cancer. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, April 5, 2011.

10) 高山仁志、波多野浩士、佐藤元孝、河嶋厚成、向井雅俊、永原 啓、植村元秀、岡 大三、中井康友、野々村祝夫. 膀胱上皮内癌(CIS)に対するBCG膀胱内注入療法の予後予測因子としての肥満細胞出現の有用性の検討。第99回日本泌尿器科学会総会、名古屋市、2011年4月24日

11) 中井康友、高山仁志、野々村祝夫. 食餌由来の発癌物質である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine (PhIP) 投与により発生するラット前立腺癌の発癌過程における肥満細胞の役割の検討。第99回日本泌尿器科学会総会、名古屋市、2011年4月24日

12) 中井康友、中山雅志、高山仁志、野々村祝夫. 前立腺癌における炎症の役割について—動物実験における検討—。第99回日本泌尿器科学会総会、名古屋市、2011年4月21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

前立腺腫瘍、前立腺肥大組織の移植維持系の確立

研究分担者 野々村祝夫 大阪大学 准教授

研究要旨：前立腺がんの臨床知見から悪性化に対するマクロファージ活性の関与について調査したところ、強い相関がみられた。この知見をもとにマクロファージ機能の低下した SCID マウスへの移植が成功の継代維持のキーポイントになる可能性があるため適切な前立腺がん症例を選択し移植に用いる。

A. 研究目的

ヒト前立腺がんは、通常のSCIDマウスやヌードマウスでは、移植後、増殖し難い。その原因について臨床的知見を得るとともに、SCIDマウスへの移植、継代維持のための適切な前立腺肥大組織、がん組織を選択し、前立腺疾患治療薬の効果と安全性に資する。

B. 研究方法

前立腺がん、前立腺肥大手術臨床例について、前立腺および周辺組織の生体内での環境（免疫、ホルモン等）を臨床医学的に調査し、前立腺がんの発生、増殖に関与する因子を究明するとともに、得られた知見をもとにSCIDマウスへの移植に適切な前立腺がん、前立腺肥大組織を選択する。

（倫理面への配慮）ヒト前立腺組織採取に当たっては、診断と治療に影響を与えない範囲での組織の利用とし、大阪大学医学部における臨床研究倫理審査委員会での承認を受けた上で採取組織の利用を行った。医薬基盤研究所においても研究総括代表者・野村が別記の如く倫理委員会および動物実験委員会の承認を得て移植を行っている。

C. 研究結果

前立腺がん組織周囲への自然免疫関連細胞の浸潤は、癌細胞の増殖や癌の進展に深く関わっている事が最近示唆されている。前立腺癌の予後規定因子に関する研究で、免疫系細胞に関する研究は少ない。腫瘍周囲に浸潤する自然免疫細胞には、mast cell, tumor associated macrophage, macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellなどがある。このうち、MSR-positive cellの腫瘍周囲への浸潤が少ないほど予後不良の傾向を示すことが明らかになった。MSR-positive cellは癌細胞の進展に対して抑制的に作用している可能性が示唆された。

また、前立腺癌の診断には、必ず前立腺の組織検査としての前立腺生検が必要である。ところが、前立腺生検による診断効率はきわめて悪く、また一旦生検で「癌無し」と診断されても、false negativeや腫瘍マーカーの上昇により再生検が

必要となる事が少なくない。現在、患者に再生検を積極的に勧める有効な指標は無く、PSAという腫瘍マーカーの上昇にもっぱら依存している。この研究では、初回生検時に「癌無し」と診断されても、その生検組織内にmacrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellの浸潤が少なければ、再生検で「癌あり」となる可能性が高くなることを示した。すなわち、前立腺組織への macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellの浸潤は、癌の発生や増殖に対して抑制的に働いている可能性がこの研究で示唆された。これらの臨床知見に基づく前立腺がん症例1例と前立腺肥大症例2例の切除を行い、医薬基盤研究所においてsuper SCIDマウスへの移植のため譲渡した。ラステステロンの付加が有効のように思われた。

D. 考察

移植した前立腺がん組織が組織形態を維持しえたのは、採取した癌組織がホルモン抵抗性癌であったため、男性ホルモン値が低くても影響がなかったことと、マクロファージ活性化の低下したSCIDマウスへの移植のためと考えられる。肥大症組織が変性を示したのは、移植マウスの男性ホルモン値が不足したためと考えられた。

E. 結論

前立腺癌に対する前立腺全摘除術後の再発危険因子として、腫瘍マーカーである PSA 値や組織学的悪性度以外のものについては報告は少ない。手術の際に切除した骨盤内リンパ節組織中の VEGF (vascular endothelial cell growth factor) の発現を調べたところ、発現陽性症例では有意に高い再発率を認めた。同様に、前立腺全摘除術後の再発危険因子に関する研究として、診断時に採取した前立腺生検組織中に存在する MSR (macrophage scavenger receptor) 陽性の炎症細胞数が少ない症例では予後不良であることが明らかとなった。マクロファージの関連が強く示唆された。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文 (4)

Nonomura N, Takayama H, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nakayama M, Tsujimura A, Nishimura K, Aozasa K, Okuyama A. Decreased infiltration of macrophage scavenger receptor-positive cells in initial negative biopsy specimens is correlated with positive repeat biopsies of the prostate. *Cancer Sci.* 2010. in press

Takayama H, Nishimura K, Tsujimura A, Nakai Y, Nakayama M, Aozasa K, Okuyama A, Nonomura N. Increased infiltration of tumor associated macrophages is associated with poor prognosis of bladder carcinoma in situ after intravesical bacillus Calmette-Guerin instillation. *J Urol.* 181(4): 1894-1900, 2009.

Fujita K, Nakayama M, Nakai Y, Takayama H, Nishimura K, Ujike T, Nishimura K, Aozasa K, Okuyama A, Nonomura N. Vascular endothelial growth factor receptor 1 expression in pelvic lymph nodes predicts the risk of cancer progression after radical prostatectomy. *Cancer Sci.* 100(6):1047-1050. 2009.

Takayama H, Nonomura N, Nishimura K, Oka D, Shiba M, Nakai Y, Nakayama M, Tsujimura A, Aozasa K, Okuyama A. Decreased immunostaining for macrophage scavenger receptor is associated with poor prognosis of prostate cancer. *BJU Int.* 103(4):470-474. 2008.

2. 学会発表

英文 (1)

Masashi Nakayama, Kazutoshi Fujita, Atsunari Kawashima, Masatoshi Mukai, Akira Nagahara, Yasutomo Nakai, Hitoshi Takayama, Kazuo Nishimura, Katsuyuki Aozasa, Akihiko Okuyama, Norio Nonomura. Vegfr1 expression in pelvic lymph nodes predicts the risk of biochemical recurrence after radical prostatectomy. 99th Annual Meeting, The Journal of Urology, Chicago, April 26, 2009 (Vol. 181, Issue 4, Supplement, Page 99)

和文 (1)

高山仁志、野々村祝夫、河嶋厚成、向井雅俊、永原 啓、芝 政宏、岡 大三、中井 康友、中山雅志、井上 均、西村和郎、奥山明彦
初回生検陰性標本におけるMacrophage Scavenger Receptor (MSR)とTumor-associated Macrophage (TAM)の再生検指標の可能性の検討。第97回日本

泌尿器科学会総会、岡山市。 2009年4月19日
J Urol 181(suppl 4) 99, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

前立腺腫瘍、前立腺肥大組織の移植維持系の確立

研究分担者 野々村祝夫 大阪大学 教授

研究要旨：前立腺がんの臨床知見からマクロファージ活性が前立腺がんの進展に大きく関与することを報告し、マクロファージ機能他、異物反応の低下した SCID マウスへの移植成功、継代維持のキーポイントになることを示した。22年度は、前立腺がんおよび前立腺肥大症の臨床経過の指標となる P S A のヒト血中濃度が研究代表者野村らの実施している移植 SCID マウス血中 P S A 微量測定法の結果と対応していることを確認すると共に P S A 組織染色も行った。

A. 研究目的

ヒト前立腺がんは、通常の SCID マウスやヌードマウスでは、移植後、増殖し難い。その原因について臨床的知見を得るとともに、SCID マウスへの移植、継代維持のための適切な前立腺肥大組織、がん組織を選択するとともに、前立腺がんおよび前立腺肥大症の臨床経過の指標となる P S A のヒト血中濃度が研究代表者野村らの実施している移植 SCID マウス血中 P S A 微量測定法の結果と対応していることを確認すると共に P S A 組織染色も行い、前立腺疾患治療薬の効果と安全性に資する。

B. 研究方法

前立腺がん、前立腺肥大手術臨床例について、前立腺および周辺組織の生体内での環境（免疫、ホルモン等）を臨床医学的に調査し、前立腺がんの発生、増殖に関与する因子を究明するとともに、得られた知見をもとに SCID マウスへの移植に適切な前立腺がん、前立腺肥大組織を選択する。

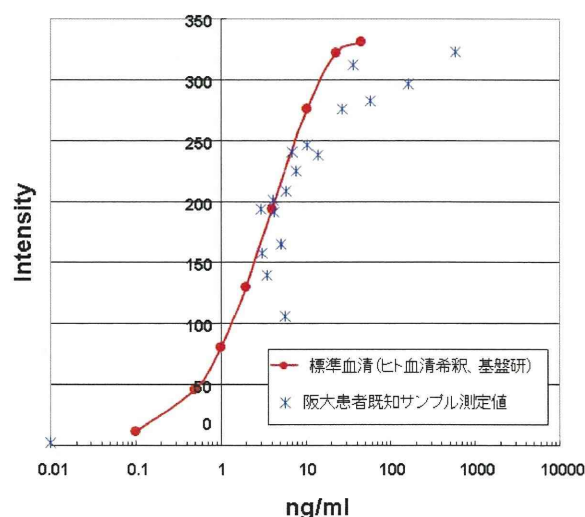
前立腺がんおよび前立腺肥大症患者の血清 P S A 値測定および組織染色を行い、移植 SCID マウスの血清中 P S A 値、組織染色との比較を行う。

（倫理面への配慮）ヒト前立腺組織および血清採取に当たっては、診断と治療に影響を与えない範囲での組織の利用とし、大阪大学医学部における臨床研究倫理審査委員会での承認を受けた上で採取組織の利用を行った。SCID マウスへの移植に関しては、医薬基盤研究所において、研究総括代表者・野村が総括報告書に記載した如く倫理委員会および動物実験委員会の承認を得て移植を行っている。

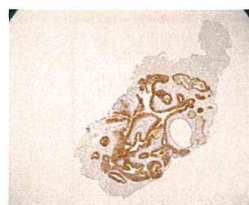
C. 研究結果

昨年度に引き続き、前立腺がん組織周囲へのマクロファージ等自然免疫関連細胞の浸潤は、ホルモン療法後の癌細胞の進展に深く関わり、予後規定因子になっている事を報告した。これらの臨床知見に基づく前腺がん症例1例と前立腺肥大症例2例の切除を行い、医薬基盤研究所において、総括研究代表者が L P S 無反応の新らたな super SCID マウスへ移植したところ、総括報告書に記載されているように臨床所見に合致して、前立腺がん組織は順調に増殖し、前立腺肥大組織の長期維持されている。テストステロンの付加の必要性も検討された。雌 SCID マウスには生着しなかった。

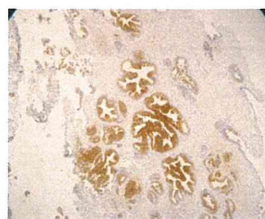
SCID マウスへ移植した前立腺がん組織や肥大組織は SCID マウス血中 P S A 値に対応し、組織染色によってもよく発現していた。



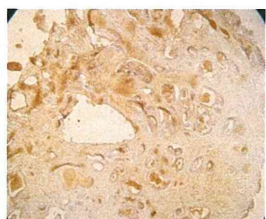
グラフは、基盤研にて、ヒトPSA標準液および患者血清を用い微量測定したものである。検量曲線（詳細は、総括研究報告書）は、0.5-50 ng 間ではほぼ直線を示し、その間では患者血清値は、ほぼ同等の値を示した。移植組織のPSA組織染色にても陽性であった。



前立腺がん原発巣組織PSA染色
(Exp. 471)
患者血清PSA値: 3045 ng/ml



前立腺肥大症患者原発巣組織PSA染色
患者血清PSA値: 5.37 ng/ml



前立腺肥大症組織SCIDマウス移植4
日目PSA染色 (Exp. 548-D-1)

D. 考察

移植した前立腺がん組織は精巣転移症例であったため、SCIDマウスへの移植は不成功だったものと考えられる。前立腺がん、肥大症移植組織の機能も特殊SCIDマウスではよく維持されているものと思われる。

E. 結論

前立腺がんの臨床知見からマクロファージ活性が前立腺がんの進展に大きく関与することを報告し、マクロファージ機能他、異物反応の低下した総括代表者の作成した特殊なSCIDマウスへの移植により成功したものと思われる。前立腺がんおよび前立腺肥大症の臨床経過の指標となるPSAが移植SCIDマウス中、移植組織でも検出され、マウス体内で前立腺がん、肥大症組織がよく機能していることを示している。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Norio Nonomura, Hitoshi Takayama, Masashi Nakayama, Yasutomo Nakai, Atsunari Kawashima, Masatoshi Mukai, Akira Nagahara, Katsuyuki Aozasa and Akira Tsujimura. Infiltration of

tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. BJU International, 105: 1-5, 2011.

2. 学会発表

- 1) 野々村 祝夫、中井 康友、中山 雅志、西村 和郎、前立腺癌の発生と進展における炎症の影響 日本癌学会 第69回大会、9.22~24、大阪、2010
- 2) 野々村 祝夫、中井 康友、中山 雅志、西村 和郎、前立腺癌の発生と進展における炎症の影響 日本癌学会 第69回大会、9.22~24、大阪、2010
- 3) 野々村 祝夫、波多野 浩士、河嶋 厚成、向井 雅俊、永原 啓、中井 康友、中山雅志、高山 仁志、木下 竜也、小林 正雄、井上 均、高田 剛、原 恒男、腎癌分子標的治療薬のneoadjuvantsettingによる使用経験 第98回日本泌尿器科学会総会4.27-30、岩手、2010
- 4) 野々村 祝夫、永原 啓、中井 康友、中山 雅志、高山 仁志、奥山 明彦、木村 泰典、中村 晃和、三神 一哉、三木 恒治、難治性精巣腫瘍に対する大量化学療法 第98回日本泌尿器科学会総会4.27-30、岩手、2010
- 5) 野々村 祝夫、永原 啓、辻村 晃、西村 和郎、垣本 健一、中村 晃和、三神 一哉、本郷 文弥、木村 泰典、三木 恒治、進行性精巣腫瘍に対する化学療法後の射精神経温存後腹膜リンパ節郭清術 日本癌治療学会 第48回大会、10.28~30、京都、2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

前立腺腫瘍、前立腺肥大組織の移植維持系の確立

研究分担者 野々村祝夫 大阪大学 教授

研究要旨：前立腺の臨床知見から悪性化に対するマクロファージ活性の関与について調査したところ、強い相関がみられた。この知見をもとにマクロファージ機能の低下した SCID マウスへの移植の成功が継代維持のキーポイントになる可能性がある。適切な前立腺がん症例を選択し移植に用いる。がん組織での移植が成功すれば、「5 α reductase inhibitor (Dutasteride)の前立腺肥大症に対する直接的効果の評価」というテーマへ研究を展開できるものとする。

A. 研究目的

ヒト前立腺がんは、通常のSCIDマウスやヌードマウスでは、移植後、増殖し難い。その原因について臨床的知見を得るとともに、SCIDマウスへの移植、継代維持のための適切な前立腺肥大組織、がん組織を選択し、前立腺疾患治療薬の効果と安全性に資する。

B. 研究方法

前立腺がん、前立腺肥大手術臨床例について、前立腺および周辺組織の生体内での環境（免疫、ホルモン等）を臨床医学的に調査し、前立腺がんの発生、増殖に関与する因子を究明するとともに、得られた知見をもとにSCIDマウスへの移植に適切な前立腺がん、前立腺肥大組織を選択する。

（倫理面への配慮）ヒト前立腺組織採取に当たっては、診断と治療に影響を与えない範囲での組織の利用とし、大阪大学医学部における臨床研究倫理審査委員会での承認を受けた上で採取組織の利用を行った。医薬基盤研究所においても研究総括代表者・野村が別記の如く倫理委員会および動物実験委員会の承認を得て移植を行っている。

C. 研究結果

前立腺がん組織周囲への自然免疫関連細胞の浸潤は、癌細胞の増殖や癌の進展に深く関わっている事が最近示唆されている。前立腺癌の予後規定因子に関する研究で、免疫系細胞に関する研究は少ない。腫瘍周囲に浸潤する自然免疫細胞には、mast cell, tumor associated macrophage, macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellなどがある。このうち、MSR-positive cellの腫瘍周囲への浸潤が少ないほど予後不良の傾向を示すことが明らかになった。MSR-positive cellは癌細胞の進展に対して抑制的に作用している可能性が示唆された。

また、前立腺癌の診断には、必ず前立腺の組織検査としての前立腺生検が必要である。ところが、前立腺生検による診断効率はきわめて悪く、また一旦生検で「癌無し」と診断されても、false

negativeや腫瘍マーカーの上昇により再生検が必要となる事が少なくない。現在、患者に再生検を積極的に勧める有効な指標は無く、PSAという腫瘍マーカーの上昇にもっぱら依存している。この研究では、初回生検時に「癌無し」と診断されても、その生検組織内にmacrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellの浸潤が少なければ、再生検で「癌あり」となる可能性が高くなることを示した。すなわち、前立腺組織へのmacrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellの浸潤は、癌の発生や増殖に対して抑制的に働いている可能性がこの研究で示唆された。これらの臨床知見に基づく前立腺癌および前立腺肥大症例の組織切除を行い、医薬基盤研究所においてsuper SCIDマウスへの移植のため譲渡した。テストステロン投与によって長期にわたる継代が可能となり、またその間の組織構築の維持が確認され、テストステロン付加が有効であると考えられた。

D. 考察

移植した前立腺がん組織が組織形態を維持しえたのは、採取したがん組織がホルモン抵抗性癌であったため、男性ホルモン値が低くても影響が無かったことと、マクロファージ活性化の低下したSCIDマウスへの移植のためと考えられる。肥大症組織が変性を示したのは、移植マウスの男性ホルモン値が不足したためと考えられた。

E. 結論

前立腺癌に対する前立腺全摘除術後の再発危険因子として、腫瘍マーカーであるPSA値や組織学的悪性度以外のものについての報告は少ない。手術の際に切除した骨盤内リンパ節組織中のVEGF(vascular endothelial cell growth factor)の発現を調べたところ、発現陽性症例では有意に高い再発率を認めた。同様に、前立腺全摘除術後の再発危険因子に関する研究として、診断時に採取した前立腺生検組織中に存在するMSR(macrophage scavenger receptor)陽性の炎症

細胞数が少ない症例では予後不良であることが明らかとなった。マクロファージの関連が強く示唆された。従って、マクロファージ機能の低下した super SCID マウスを用いたヒト前立腺組織移植系の確立は今後の薬剤効果の評価や研究に極めて重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hatano K, Miyamoto Y, Nonomura N, Kaneda Y. Expression of gangliosides, GD1a and sialyl paragloboside, is regulated by NF- κ B- dependent transcriptional control of α 2,3- sialyltransferase I, II and VI in human castration-resistant prostate cancer cells. *Int J Cancer*, 129:1837-1847, 2011.

2) Hatano K, Nonomura N, Nishimura K, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nakayama M, Takayama H, Tsujimura A, Okuyama A. Retrospective analysis of an oral combination of dexamethasone, uracil plus tegafur and cyclophosphamide for hormone-refractory prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 41(2):253-9, 2011.

3) Nonomura N, Takayama H, Nakayama M, Nakai Y, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Aozasa K, Tsujimura A. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int*. 107(12):1918-22, 2011.

4) 中井康友, 高山仁志, 野々村祝夫. 前立腺炎後の組織修復過程における骨髄由来細胞 (Bone marrow-derived cells) の役割についての検討。泌尿器外科, 24(8): 1235-1237, 2011.

5) 中井康友, 辻村晃, 野々村祝夫. 【前立腺癌(第2版)-基礎・臨床研究のアップデート-】 基礎前立腺癌のアンドロゲン非依存性進展 副腎ステロイドの役割(解説/特集) 日本臨床, 69巻増刊5 前立腺癌: 112-116, 2011.

2. 学会発表

1) Takayama H, Hatano K, Satoh M, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nonomura N. Increased infiltration of mast cells infiltrating in non-malignant biopsy is associated with detection of prostate cancer. Annual Meeting of the American Urological Association, Washington DC, May 17, 2011.

2) Takayama H, Hatano K, Satoh M, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nonomura N. Increased number of mast cells infiltrating in non-malignant biopsy is associated with detection of prostate cancer. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, April 5, 2011.

3) 高山仁志, 波多野浩士, 佐藤元孝, 河嶋厚成, 向井雅俊, 永原 啓, 植村元秀, 岡 大三, 中井康友, 野々村祝夫. 膀胱上皮内癌(CIS)に対するBCG膀胱内注入療法の予後予測因子としての肥満細胞出現の有用性の検討。第99回日本泌尿器科学会総会, 名古屋市, 2011年4月24日

4) 中井康友, 高山仁志, 野々村祝夫. 食餌由来の発癌物質である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine (PhIP) 投与により発生するラット前立腺癌の発癌過程における肥満細胞の役割の検討。第99回日本泌尿器科学会総会, 名古屋市, 2011年4月24日

5) 中井康友, 中山雅志, 高山仁志, 野々村祝夫. 前立腺癌における炎症の役割について—動物実験における検討—。第99回日本泌尿器科学会総会, 名古屋市, 2011年4月21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

婦人科腫瘍、胎児組織の移植維持系の確立

研究分担者 榎本隆之 大阪大学 准教授

研究要旨：我々は婦人科癌において使用頻度の高い抗癌剤に対する耐性獲得のkey タンパクとして Annexin A4 を同定した。そのメカニズムを解析するとともに臨床的意義に関する検討を行った。また婦人科癌における上皮-間質相互関与を解析する移植モデルを確立し HB-EGF が子宮頸癌進展に重要な役割を持つことを示した。

A. 研究目的

抗癌剤耐性のメカニズムを明らかにすることは予後不良な婦人科癌の予後を改善するために急務である。当研究においては、婦人科癌の移植系を確立し、抗癌剤の有効性の予測や感受性に関わる分子を同定することを目的とした。

B. 研究方法

1. 卵巣癌・子宮体癌・子宮頸癌で抗癌剤が奏効した症例としなかった症例における癌組織での蛋白質発現を網羅的に解析し、抗癌剤感受性の鍵となる蛋白質の同定を試みた。
2. 癌細胞を抗癌剤で処理した場合に起こる変化を細胞株および臨床検体を用いて解析した。
3. 子宮頸癌組織のうち上皮成分と間質を個々に培養し、移植モデルを確立し上皮-間質相互作用が腫瘍増殖に与える影響を検討した。

（倫理面への配慮）

研究に際し、細胞株以外に臨床検体の採取・利用も不可欠であるが、インフォームドコンセントを得たうえで、手術で摘出された組織を用いるため、患者に危害が及ぶことはなかった。

C. 研究結果

1. iTRAQ法によるタンパク発現の違いから卵巣癌および子宮内膜癌における抗癌剤の有効性に関わる重要な蛋白質、すなわちパクリタキセルおよびカルボプラチンに対する耐性獲得に影響する分子として Annexin A4 を同定した。そのメカニズムは抗癌剤の排出を促進することであった。

(Kim A, Enomoto T, et al. *Int J Cancer*. 2009 125(10):2316-22)。

2. 我々は卵巣癌細胞を抗癌剤処理した場合、細胞死を来す前にグルコースの取り込みが減少するメカニズムとして、GLUT1 の細胞膜からの細胞内への局在変化を他に先駆けて証明した

(Egawa-Takata, Enomoto T et al. *Cancer Sci*. 2010 Oct; 101(10):2171-2178)。

3. マウスへの Xenograft 移植モデル実験より、子宮頸癌において上皮-間質共培養した腫瘍は、上皮単独培養の腫瘍よりも有意に増殖速度が速かった。そのメカニズムのひとつとして HB-EGF のオートクリン機構が重要であることを証明した。(Murata T. et al, *Cancer Res*. 2011 Nov 1;71(21):6633-42. Epub 2011 Oct 18)。

D. 考察

卵巣癌・子宮内膜癌の治療において抗癌剤は重要であり、特に初回治療に使用されるパクリタキセルおよびカルボプラチンに対する耐性を与える分子として Annexin A4 を同定した。

また、卵巣癌における抗癌剤の有効性を、抗癌剤投与後の癌細胞におけるグルコースの取り込み能の変化をみることで、癌の形態上の変化の前に予測できることが判明した。

E. 結論

子宮体癌および卵巣癌において、Annexin A4 は抗癌剤の排出を促進することで抗癌剤耐性を与えている。また、抗癌剤の効果を、予測する上で投与後の癌細胞におけるグルコースの取り込み能の変化が重要である。また上皮-間質相互関与を破壊することが腫瘍の進展を阻止する可能性がある。これらの先駆的情報は今後、実際の臨床への応用の基盤となるものである。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, Fujita M, Yamamoto R, Kanagawa T, Shimizu H, Kimura T. A retrospective analysis of ovarian endometriosis during pregnancy. *Fertil Steril*. 94(1):78-84. 2009.

- Kim A, Enomoto T, Serada S, Ueda Y, Takahashi T, Ripley B, Miyatake T, Fujita M, Lee CM, Morimoto K, Fujimoto M, Kimura T, Naka T. Enhanced expression of Annexin A4 in clear cell carcinoma of the ovary and its association with chemoresistance to carboplatin. *Int J Cancer*. 125, 2316-2322. 2009.
- Mabuchi S, Morishige K, Fujita M, Tsutsui T, Sakata M, Enomoto T, Kimura T. The activity of carboplatin and paclitaxel for recurrent cervical cancer after definitive radiotherapy. *Gynecol Oncol*. 113, 200-204. 2009.
- Hori M, Kim T, Murakami T, Imaoka I, Onishi H, Nakamoto A, Nakaya Y, Tomoda K, Tsutsui T, Enomoto T, Kimura T, Nakamura H. MR imaging of endometrial carcinoma for preoperative staging at 3.0 T: comparison with imaging at 1.5 T. *J Magn Reson Imaging*. 30, 621-630, 2009.
- Hori M, Kim T, Murakami T, Imaoka I, Onishi H, Tomoda K, Tsutsui T, Enomoto T, Kimura T, Nakamura H. Uterine cervical carcinoma: preoperative staging with 3.0-T MR imaging--comparison with 1.5-T MR imaging. *Radiology*. 251, 96-104, 2009.
- Mabuchi S, Morishige K, Isohashi F, Yoshioka Y, Takeda T, Yamamoto T, Yoshino K, Enomoto T, Inoue T, Kimura T. Postoperative concurrent nedaplatin-based chemoradiotherapy improves survival in early-stage cervical cancer patients with adverse risk factors. *Gynecol Oncol*. 115, 482-487. 2009.
- Rahadiani N, Ikeda JI, Mamat S, Matsuzaki S, Ueda Y, Umehara R, Tian T, Wang Y, Enomoto T, Kimura T, Aozasa K, Morii E. Expression of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in endometrioid adenocarcinoma and its clinical implications. *Cancer Sci*. 102: 903-908, 2011.
- Sato S, Aoki D, Kobayashi H, Saito T, Nishimura R, Nagano T, Yaegashi N, Enomoto T, Kigawa J. Questionnaire survey of the current status of radical trachelectomy in Japan. *Int J Clin Oncol*. 16: 141-144, 2010.
- Ueda Y, Matsumura Y, Egawa-Takata T, Miyake T, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Matsuzaki S, Yokoyama T, Miyoshi Y, Yamasaki M, Enomoto T, Kimura T. Disease-free interval after primary treatment predicts prognosis of recurrent endometrial carcinoma. *Anticancer Res*. 30(10):4347-52, 2010.
- Mabuchi S, Okazawa M, Isohashi F, Ohta Y, Maruoka S, Yoshioka Y, Enomoto T, Morishige K, Kamiura S, Kimura T. Postoperative whole pelvic radiotherapy plus concurrent chemotherapy versus extended-field irradiation for early-stage cervical cancer patients with multiple pelvic lymph node metastases. *Gynecol Oncol*. 120(1): 94-100, 2011.
- Egawa-Takata T, Endo H, Fujita M, Ueda Y, Miyatake T, Okuyama H, Yoshino K, Kamiura S, Enomoto T, Kimura T, Inoue M. Early reduction of glucose uptake after cisplatin treatment is a marker of cisplatin sensitivity in ovarian cancer. *Cancer Sci*. 101(10):2171-8, 2010.
- Kim A, Serada S, Enomoto T, Naka T. Targeting annexin A4 to counteract chemoresistance in clear cell carcinoma of the ovary. *Expert Opin Ther Targets*. 14(9):963-71, 2010.
- Mabuchi S, Morishige K, Enomoto T, Kimura T. Carboplatin and paclitaxel as an initial treatment in patients with stage IVb cervical cancer: a report of 7 cases and a review of the literature. *J Gynecol Oncol*. 21(2):93-6, 2010.
- Miyake T, Ueda Y, Matsuzaki S, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Nomura T, Enomoto T, Kimura T. CRABP1-reduced expression is associated with poorer prognosis in serous and clear cell ovarian adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 137: 715-722, 2010.
- Ueda Y, Miyake T, Egawa-Takata T, Miyatake T, Matsuzaki S, Yokoyama T, Yoshino K, Fujita M, Enomoto T, Kimura T. Second-line chemotherapy for advanced or recurrent endometrial carcinoma previously treated with paclitaxel and carboplatin, with or without epirubicin. *Cancer Chemother Pharmacol*. 67: 829-835, 2010.
- Ueda Y, Enomoto T, Egawa-Takata T, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Matsuzaki S, Yokoyama T, Miyoshi Y, Kimura T. Endometrial carcinoma: better prognosis for asymptomatic recurrences than for symptomatic cases found by routine follow-up.

Int J Clin Oncol. 15(4):406-12, 2010.

Mamat S, Ikeda J, Enomoto T, Ueda Y, Rahadiani N, Tian T, Wang Y, Qiu Y, Kimura T, Aozasa K, Morii E. Prognostic significance of CUB domain containing protein expression in endometrioid adenocarcinoma. *Oncol Rep.* 23(5):1221-7, 2010.

Murao A, Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva OA, Tanaka-Harada Y, Fujiki F, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Shirakata T, Hashimoto N, Myoui A, Ueda T, Takeda Y, Osaki T, Enomoto T, Yoshikawa H, Kimura T, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H. *Cancer Sci.* 101(4):848-54, 2010.

Mabuchi S, Ugaki H, Isohashi F, Yoshioka Y, Temma K, Yada-Hashimoto N, Takeda T, Yamamoto T, Yoshino K, Nakajima R, Kuragaki C, Morishige K, Enomoto T, Inoue T, Kimura T. Concurrent weekly nedaplatin, external beam radiotherapy and high-dose-rate brachytherapy in patients with FIGO stage IIIb cervical cancer: a comparison with a cohort treated by radiotherapy alone. *Gynecol Obstet Invest.* 69(4):224-32, 2010.

Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, Egawa-Takata T, Ugaki H, Yoshino K, Fujita M, Kimura T. Endometrial carcinoma with extra-abdominal metastasis: improved prognosis following cytoreductive surgery. *Ann Surg Oncol.* 17(4):1111-7, 2010.

Ueda Y, Okazawa M, Enomoto T, Egawa-Takata T, Kimura T, Yoshino K, Fujita M, Ohta Y, Kamiura S, Kimura T. Dissection of unsuspected para-aortic lymph nodes does not improve prognosis of advanced endometrial carcinoma with intra- or extra-abdominal metastasis. *Anticancer Res.* (12):4513-7, 2011.

Yoshino K, Enomoto T, Fujita M, Ueda Y, Kimura T, Kobayashi E, Tsutsui T, Kimura T. Salvage chemotherapy for recurrent or persistent clear cell carcinoma of the ovary: a single-institution experience for a series of 20 patients. *Int J Clin Oncol.* 2011 Dec 10. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22160560.

Fujiwara K, Egawa-Takata T, Ueda Y, Kimura T, Yoshino K, Fujita M, Miyatake T, Ohta Y, Kamiura S, Enomoto T, Kimura T. Investigating the relative efficacies of combination chemotherap

y of paclitaxel/carboplatin, with or without anthracycline, for endometrial carcinoma. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Nov 30. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22127553.

Miyoshi Y, Miyatake T, Ueda Y, Morimoto A, Yokoyama T, Matsuzaki S, Kimura T, Yoshino K, Fujita M, Ohashi H, Morii E, Enomoto T, Kimura T. Prediction, based on resection margins, of long-term outcome of cervical intraepithelial neoplasia 3 treated by Shimodaira-Taniguchi conization. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Nov 23. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22109382.

Murata T, Mizushima H, Chinen I, Moribe H, Yagi S, Hoffman RM, Kimura T, Yoshino K, Ueda Y, Enomoto T, Mekada E. HB-EGF and PDGF mediate reciprocal interactions of carcinoma cells with cancer-associated fibroblasts to support progression of uterine cervical cancers. *Cancer Res.* 71(21):6633-42, 2011.

Mabuchi S, Okazawa M, Isohashi F, Matsuo K, Ohta Y, Suzuki O, Yoshioka Y, Enomoto T, Kamiura S, Kimura T. Radical hysterectomy with a djuvant radiotherapy versus definitive radiotherapy alone for FIGO stage IIB cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 123(2):241-7, 2011.

Ugaki H, Kimura T, Miyatake T, Ueda Y, Yoshino K, Matsuzaki S, Fujita M, Kimura T, Morii E, Enomoto T. Intraoperative frozen section assessment of myometrial invasion and histology of endometrial cancer using the revised FIGO staging system. *Int J Gynecol Cancer.* 21(7):1180-4, 2011.

Matsuo K, Nishimura M, Bottsford-Miller JN, Huang J, Komurov K, Armaiz-Pena GN, Shahzad MM, Stone RL, Roh JW, Sanguino AM, Lu C, Im DD, Rosenshien NB, Sakakibara A, Nagano T, Yamasaki M, Enomoto T, Kimura T, Ram PT, Schmeler KM, Gallick GE, Wong KK, Frumovitz M, Sood AK. Targeting SRC in mucinous ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res.* 17(16):5367-78, 2011.

Enomoto T, Yoshino K, Fujita M, Miyoshi Y, Ueda Y, Koyama S, Kimura T, Tomimatsu T, Kimura T. A successful case of abdominal radical trachelectomy for cervical cancer during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 158(2):365-6, 2011.

Egawa-Takata T, Ueda Y, Kuragaki C, Miyake T, Miyatake T, Fujita M, Yoshino K, Nakashim

a R, Okazawa M, Tsutsui T, Morishige K, Kimura T, Yamasaki M, Nishizaki T, Nagamatsu M, Ito K, Asada M, Ogita K, Wakimoto A, Yamamoto T, Nishio Y, Enomoto T. Chemotherapy for endometrial carcinoma (GOGO-EM1 study): TEC (paclitaxel, epirubicin, and carboplatin) is an effective remission-induction and adjuvant therapy. *Cancer Chemother Pharmacol.* 68(6):1603-10, 2011.

Miyake T, Ueda Y, Egawa-Takata T, Matsuzaki S, Yokoyama T, Miyoshi Y, Kimura T, Yoshino K, Fujita M, Yamasaki M, Enomoto T, Kimura T. Recurrent endometrial carcinoma: prognosis for patients with recurrence within 6 to 12 months is worse relative to those relapsing at 12 months or later. *Am J Obstet Gynecol.* 204(6):535.e1-5, 2011.

Fujwara K, Yoshino K, Enomoto T, Fujita M, Ueda Y, Miyatake T, Kimura T, Muraji M, Fujita H, Kimura T, Hori M. Usefulness of computed tomography in predicting cytoreductive surgical outcomes for ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 284(6):1501-7, 2011.

Rahadiani N, Ikeda J, Mamat S, Matsuzaki S, Ueda Y, Umehara R, Tian T, Wang Y, Enomoto T, Kimura T, Aozasa K, Morii E. Expression of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in endometrial adenocarcinoma and its clinical implications. *Cancer Sci.* 102(4):903-8, 2011.

Ueda Y, Enomoto T, Kimura T, Yoshino K, Fujita M, Kimura T. Two distinct pathways to development of squamous cell carcinoma of the vulva. *J Skin Cancer.* 2011;2011:951250. Epub 2010 Sep 28. PubMed PMID: 21188235; PubMed Central PMCID: PMC3003991.

Sato S, Aoki D, Kobayashi H, Saito T, Nishimura R, Nagano T, Yaegashi N, Enomoto T, Kigawa J. Questionnaire survey of the current status of radical trachelectomy in Japan. *Int J Clin Oncol.* 16(2):141-4, 2011.

Mabuchi S, Okazawa M, Isohashi F, Ohta Y, Maruoka S, Yoshioka Y, Enomoto T, Morishige K, Kamiura S, Kimura T. Postoperative whole pelvic radiotherapy plus concurrent chemotherapy versus extended-field irradiation for early-stage cervical cancer patients with multiple pelvic lymph node metastases. *Gynecol Oncol.* 20(1):94-100, 2011.

Ueda Y, Miyake T, Egawa-Takata T, Miyatake

T, Matsuzaki S, Yokoyama T, Yoshino K, Fujita M, Enomoto T, Kimura T. Second-line chemotherapy for advanced or recurrent endometrial carcinoma previously treated with paclitaxel and carboplatin, with or without epirubicin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 67(4):829-35, 2011.

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

婦人科腫瘍、胎児組織の移植維持系の確立

研究分担者 榎本隆之 大阪大学 准教授

研究要旨：婦人科癌における抗癌剤の有効性に関わる蛋白質を網羅的に解析し、Annexin A4 を同定した。また、抗癌剤の有効性を、抗癌剤投与後の癌細胞におけるグルコースの取り込み能の変化をみることで、癌の形態上の変化の前に予測できることを明らかにした。

A. 研究目的

婦人科癌に対しては抗癌剤治療が行われることが多いが、その有効性は限られている。生活習慣の変化などによって増加している婦人科癌の制御は急務であり、当研究においては、婦人科癌の移植系を確立し、抗癌剤の有効性の予測や感受性に関わる遺伝子を同定することなどを目的とする。

B. 研究方法

1. 婦人科癌で抗癌剤が奏効した症例としなかった症例における癌組織での蛋白質発現を網羅的に解析し、抗癌剤感受性の鍵となる蛋白質の同定を試みた。

2. 癌細胞を抗癌剤で処理した場合に起こる変化を細胞株および臨床検体を用いて解析した。

（倫理面への配慮）

研究に際し、細胞株以外に臨床検体の採取・利用も不可欠であるが、インフォームドコンセントを得たうえで、手術で摘出された組織を用いるため、患者に危害が及ぶことはなかった。

C. 研究結果

1. 卵巣癌および子宮内膜癌における抗癌剤の有効性に関わる重要な蛋白質として Annexin A4 を同定した。そのメカニズムとして、Annexin A4 が抗癌剤の排出を促進することで抗癌剤耐性を来たすことを解明した(Kim A, Enomoto T, et al. Int J Cancer. 2009 125(10):2316-22)。

2. 卵巣癌細胞を抗癌剤処理した場合、細胞死を来たす前にグルコースの取り込みが減少することを発見した（投稿中）。

D. 考察

卵巣癌・子宮内膜癌の治療において抗癌剤は重要であり、その感受性に関わる蛋白質として Annexin A4 を同定した。今後、同マウスを用いて Annexin A4 を target とした分子標的治療の開発に向けた研究を行う予定である。

また、卵巣癌における抗癌剤の有効性を、抗癌剤投与後の癌細胞におけるグルコースの取り込み能の変化をみることで、癌の形態上の変化の前に予測できることが判明した。今後、同マウスを用いて、抗癌剤感受性予測システムを確立したい。

E. 結論

婦人科癌において、Annexin A4 は抗癌剤の排出を促進することで抗癌剤耐性を来たすことがはじめて示された。また、抗癌剤の有効性を、抗癌剤投与後の癌細胞におけるグルコースの取り込み能の変化をみることで、癌の形態上の変化の前に予測できる可能性も示唆された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

英文（8）

Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, Fujita M, Yamamoto R, Kanagawa T, Shimizu H, Kimura T. A retrospective analysis of ovarian endometriosis during pregnancy. Fertil Steril. 2009. in press

Kim A, Enomoto T, Serada S, Ueda Y, Takahashi T, Ripley B, Miyatake T, Fujita M, Lee CM, Morimoto K, Fujimoto M, Kimura T, Naka T. Enhanced expression of Annexin A4 in clear cell carcinoma of the ovary and its association with chemoresistance to carboplatin. Int J Cancer. 125, 2316-2322. 2009.

Mabuchi S, Morishige K, Fujita M, Tsutsui T, Sakata M, Enomoto T, Kimura T. The activity of carboplatin and paclitaxel for recurrent cervical cancer after definitive radiotherapy. Gynecol Oncol. 113, 200-204. 2009.

Hori M, Kim T, Murakami T, Imaoka I, Onishi H, Nakamoto A, Nakaya Y, Tomoda K, Tsutsui T, Enomoto T, Kimura T, Nakamura H. MR imaging of

endometrial carcinoma for preoperative staging at 3.0 T: comparison with imaging at 1.5 T. J Magn Reson Imaging. 30, 621-630, 2009.

Hori M, Kim T, Murakami T, Imaoka I, Onishi H, Tomoda K, Tsutsui T, Enomoto T, Kimura T, Nakamura H. Uterine cervical carcinoma: preoperative staging with 3.0-T MR imaging--comparison with 1.5-T MR imaging. Radiology. 251, 96-104, 2009.

Mabuchi S, Morishige K, Isohashi F, Yoshioka Y, Takeda T, Yamamoto T, Yoshino K, Enomoto T, Inoue T, Kimura T. Postoperative concurrent nedaplatin-based chemoradiotherapy improves survival in early-stage cervical cancer patients with adverse risk factors. Gynecol Oncol. 115, 482-487. 2009.

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

婦人科腫瘍、胎児組織の移植維持系の確立

研究分担者 榎本隆之 大阪大学 准教授

研究要旨： 卵巣癌・子宮内膜癌において、Annexin A4 が蛋白質 A を介して抗癌剤感受性に関与していることを明らかにした。また、卵巣癌細胞は抗癌剤にさらされると、細胞死を起こす前に GLUT1 が細胞膜から細胞内へ移動することによってグルコースの取り込みが減少することを明らかにした。

A. 研究目的

婦人科癌に対しては抗癌剤治療が行われることが多い。昨年度、Annexin A4 が卵巣癌の抗癌剤感受性に関わることを明らかにしたが、本年度はそのメカニズムを明らかにし、また、子宮内膜癌における Annexin A4 の役割についても解析する。さらに、卵巣癌細胞を抗癌剤処理した場合に細胞死を来す前にグルコースの取り込みが減少することを昨年度明らかにしたが、本年度はこのメカニズムを解明し、臨床応用へ発展させる。また、卵巣癌・子宮内膜癌の発生・進展に関わる新規遺伝子・蛋白質を明らかにする。以上のことを本年度の目的とする。

B. 研究方法

1. 卵巣癌・子宮内膜癌において Annexin A4 が抗癌剤感受性に関わるメカニズムについて、細胞株および当マウスを用いて解析した。
2. 癌細胞を抗癌剤で処理した場合に起こる変化とそのメカニズムを細胞株および臨床検体を用いて解析した。

（倫理面への配慮）

研究に際し、細胞株以外に臨床検体の採取・利用も不可欠であるが、インフォームドコンセントを得たうえで、手術で摘出された組織を用いるため、患者に危害が及ぶことはなかった。また、これを応用した臨床試験については大阪大学医学部附属病院の倫理審査委員会での承認を得た。

3. 卵巣癌・子宮内膜癌の発生・進展に関わる新規遺伝子・蛋白質については、細胞株・臨床検体などを用いて解析した。

C. 研究結果

1. 卵巣癌のみならず子宮内膜癌においても Annexin A4 が抗癌剤感受性に関わっているこ

とを同定した。特に、癌細胞がプラチナ系薬剤にさらされた場合、Annexin A4 が蛋白質 A の発現および細胞膜への局在移動を誘導することによってプラチナ抵抗性を起こすことを他に先駆けて証明した（Kim A, Enomoto T, et al. *Expert Opin Ther Targets*. 2010 Sep;14(9):963-971, さらに、論文準備中）。

2. 卵巣癌細胞を抗癌剤処理した場合、細胞死を来す前にグルコースの取り込みが減少するメカニズムとして、GLUT1 の細胞膜からの細胞内への局在変化を他に先駆けて証明した（Egawa-Takata, Enomoto T et al. *Cancer Sci*. 2010 Oct; 101(10):2171-2178）。
3. 卵巣癌・子宮体癌の新規関連遺伝子・蛋白質として、CRABP1, CDCP1, ALDH1 を同定した。

D. 考察

卵巣癌・子宮内膜癌の治療において抗癌剤は重要であり、Annexin A4 が蛋白質 A を介して抗癌剤感受性に関与していることが明らかになった。今後、当マウスを用いて Annexin A4 および蛋白質 A を target とした分子標的治療の開発に向けた研究を行う予定である。

また、卵巣癌細胞は抗癌剤にさらされると、抗癌剤に感受性がある場合、細胞死を起こす前に GLUT1 が細胞膜から細胞内へ移動することによってグルコースの取り込みが減少することを明らかにしたが、現在これを臨床応用すべく、卵巣癌の抗癌剤投与前後でのグルコース取り込み能の変化と抗癌剤奏効性の相関を解析する臨床試験を被験者の informed consent を得た上で行っている。

また、新規卵巣癌・子宮内膜癌関連遺伝子・蛋白質である CRABP1, CDCP1, ALDH1 については、今後、当マウスを用いて、そのメカニズムの解明

と分子標的治療の開発に向けた研究を行う予定である。

E. 結論

卵巣癌・子宮内膜癌の治療において抗癌剤は重要であり、Annexin A4 が蛋白質Aを介して抗癌剤感受性に関与していることが明らかになった。

また、卵巣癌細胞は抗癌剤にさらされると、抗癌剤に感受性がある場合、細胞死を起こす前にGLUT1 が細胞膜から細胞内へ移動することによってグルコースの取り込みが減少することを明らかにしたが、現在これを臨床応用にむけた臨床試験を行っている。

F. 健康危険情報

上記臨床試験については、大阪大学医学部附属病院の倫理審査委員会での承認を得ており、それに基づいて厳格に行われている。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Rahadiani N, Ikeda JI, Mamat S, Matsuzaki S, Ueda Y, Umehara R, Tian T, Wang Y, Enomoto T, Kimura T, Aozasa K, Morii E. Expression of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) in endometrioid adenocarcinoma and its clinical implications. *Cancer Sci.* 102: 903-908, 2011.
- (2) Sato S, Aoki D, Kobayashi H, Saito T, Nishimura R, Nagano T, Yaegashi N, Enomoto T, Kigawa J. Questionnaire survey of the current status of radical trachelectomy in Japan. *Int J Clin Oncol.* 16: 141-144, 2010.
- (3) Ueda Y, Matsumura Y, Egawa-Takata T, Miyake T, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Matsuzaki S, Yokoyama T, Miyoshi Y, Yamasaki M, Enomoto T, Kimura T. Disease-free interval after primary treatment predicts prognosis of recurrent endometrial carcinoma. *Anticancer Res.* 30(10):4347-52, 2010, Oct.
- (4) Mabuchi S, Okazawa M, Isohashi F, Ohta Y, Maruoka S, Yoshioka Y, Enomoto T, Morishige K, Kamiura S, Kimura T. Postoperative whole pelvic radiotherapy plus concurrent chemotherapy versus extended-field irradiation for early-stage cervical cancer patients with multiple pelvic lymph node metastases. *Gynecol Oncol.* 120(1): 94-100, 2011, Jan.
- (5) Egawa-Takata T, Endo H, Fujita M, Ueda Y, Miyatake T, Okuyama H, Yoshino K, Kamiura S, Enomoto T, Kimura T, Inoue M. Early reduction of glucose uptake after cisplatin treatment is a marker of cisplatin sensitivity in ovarian cancer. *Cancer Sci.* 101(10):2171-8, 2010, Oct.
- (6) Kim A, Serada S, Enomoto T, Naka T. Targeting annexin A4 to counteract chemoresistance in clear cell carcinoma of the ovary. *Expert Opin Ther Targets.* 14(9):963-71, 2010, Sep.
- (7) Mabuchi S, Morishige K, Enomoto T, Kimura T. Carboplatin and paclitaxel as an initial treatment in patients with stage IVb cervical cancer: a report of 7 cases and a review of the literature. *J Gynecol Oncol.* 21(2):93-6, 2010 Jun.
- (8) Miyake T, Ueda Y, Matsuzaki S, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Nomura T, Enomoto T, Kimura T. CRABP1-reduced expression is associated with poorer prognosis in serous and clear cell ovarian adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 137: 715-722, 2010.
- (9) Ueda Y, Miyake T, Egawa-Takata T, Miyatake T, Matsuzaki S, Yokoyama T, Yoshino K, Fujita M, Enomoto T, Kimura T. Second-line chemotherapy for advanced or recurrent endometrial carcinoma previously treated with paclitaxel and carboplatin, with or without epirubicin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 67: 829-835, 2010.
- (10) Ueda Y, Enomoto T, Egawa-Takata T, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Matsuzaki S, Yokoyama T, Miyoshi Y, Kimura T. Endometrial carcinoma: better prognosis for asymptomatic recurrences than for symptomatic cases found by routine follow-up. *Int J Clin Oncol.* 15(4):406-12, 2010 Aug.
- (11) Mamat S, Ikeda J, Enomoto T, Ueda Y, Rahadiani N, Tian T, Wang Y, Qiu Y, Kimura T, Aozasa K, Morii E. Prognostic significance of CUB domain containing protein expression in endometrioid adenocarcinoma. *Oncol Rep.* 23(5):1221-7, 2010, May.
- (12) Muraio A, Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva OA, Tanaka-Harada Y, Fujiki F, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Shirakata T, Hashimoto N, Myoui A, Ueda T, Takeda Y, Osaki T, Enomoto T, Yoshikawa H, Kimura T, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H. *Cancer Sci.* 101(4):848-54, 2010 Apr.
- (13) Mabuchi S, Ugaki H, Isohashi F, Yoshioka Y, Temma K, Yada-Hashimoto N, Takeda T, Yamamoto T, Yoshino K, Nakajima R, Kuragaki C,