

学内グラント 終了時報告書

平成19年度 学内グラント報告書

HIF-1 α を分子標的とする卵巣癌治療へのアプローチ

研究代表者 安田 政実 (埼玉医科大学 国際医療センター 病理診断科)

緒言

卵巣腫瘍を特徴付ける大きな要因に組織型の多彩さ
があげられる。このことは治療の個別化を計ることの
困難さを招く一義的な要因と思われる。治療の中心は
根治的手術であるが、腫瘍の完全摘出ができない場合
は術後の化学療法が治療のポイントとなる。

上皮性卵巣腫瘍の一型である明細胞腺癌はしばしば
化学療法抵抗性を示し、予後不良であることが知られ
ている。1999-2001年のFIGO annual reportによると明
細胞腺癌は全世界的に卵巣腫瘍の5~10%を占めると
報告されているが、本邦では卵巣腫瘍全体の21.9%
にも及ぶ¹⁾。卵巣腫瘍に対する現在の治療レジメンは患
者の個々に対するテーラーメイド医療ではなく、ラン
ダム化試験に基づいたスタンダードなものが適用さ
れている。明細胞腺癌は予てから子宮内膜症との関連
性が指摘されており、内膜症を背景として癌化するこ
ともしばしばみられる。内膜症を有する患者は定期的
に外来受診、検査をすることが多いため、本腫瘍はI
a~Ic期といった早期発見例が多い。そのため、進
行例を除けば残存腫瘍径1cm以下のoptimal surgery
が可能であるが、他の組織型に比較すると予後は不良
である。明細胞腺癌の化学療法に対する低感受性は予
後改善の大きなハードルとなっており、本症の治療に
おいて化学療法耐性の克服は重要な課題である^{2,3)}。

上皮性卵巣腫瘍に限らず、様々な悪性腫瘍において
細胞の酸素供給は癌が生き延びるために重要な因子の
一つであることが知られている。1992年にSemenzaと
Wangらにより初めて生体における酸素恒常性を司る
因子として低酸素誘導因子Hypoxia Inducible Factor-
1 α (HIF-1 α) が報告され⁴⁾、1995年に単離・精製され
て以来、分子レベルの研究が加速的に進み、癌の微
小環境におけるHIF-1の機能が次々と明らかになっ
てきた⁵⁾。HIF-1はヘリックスループヘリックス構造
をもつ α サブユニット(HIF-1 α)と β サブユニット
(HIF-1 β)から構成されるヘテロ二量体タンパクで
ある。HIF-1 β は恒常的な核内タンパクであるのに対

し、HIF-1 α は正常組織において正常の酸素濃度分圧
下ではプロテアソームによる分解を受けるため、ほと
んど検出できない。この分解は402番目と564番目の
プロリン残基が2-oxoglutarateを基質として水酸化さ
れ、ユビキチンE3リガーゼ複合体の仲介により、von
Hippel Lindau腫瘍抑制タンパク(VHL)がHIF-1 α の酸
素依存性分解ドメインに結合することで生じる。し
かし、一旦細胞が低酸素に暴露されるとHIF-1 α の転
写活性領域のC末端側に位置するアスパラギン残基
が水酸化を抑制するため、HIF-1 α のユビキチン化に
よる分解が抑制され、安定化することで、HIF-1 α の
急速な蓄積を生じることが明らかとなっている。その
後、細胞質に蓄積したHIF-1 α はヒストン脱アセチル
化酵素HDAC7(Histone-deacetylase 7)の結合により核
内に移行し、 β サブユニットと二量体を形成した後、
コアクチベーターであるCBP/p300との複合体を形成
し、標的遺伝子Hypoxia responsive elements(HREs)に
結合することで血管新生因子の代表格であるVascular
Endothelial Growth Factor(VEGF)や糖の能動輸送に
関わるGlucose Transporter-1(GLUT-1)等の様々な増殖
因子の転写を誘導する^{6,8)}。HIF-1によって直接発現が
誘導される遺伝子は現在までに約60以上が報告され
ており、これらの遺伝子はプロモーター・エンハン
サー領域にHIF-1結合配列(HREs)を有する。このよ
うにHIF-1 α は組織の細胞濃度によりその発現が調節
されることで、生体の恒常性の維持を司る。その後の研
究からHIF-1 α は虚血性心疾患や低酸素脳症、さら
には腫瘍の増殖・進展においても重要な役割を果たす
ことが明らかとなってきている。また、近年では酸素濃
度に依存しないHIF-1 α の発現制御が報告されてきて
おり、とりわけPI3K-Akt-mTORシグナル伝達経路に
よるHIF-1 α の制御が明らかになりつつあるが⁹⁾、その
詳細な分子機構については知られていない。

mTOR(mammalian target of rapamycin)はマクロラ
イド系抗生物質rapamycinの標的遺伝子として同定
された、約290 kDaのセリン・スレオニンキナーゼで
あり、細胞の分裂や成長、生存における調節因子と

しての役割を果たしており、とりわけ生体の生存能力を維持するための栄養素の利用に不可欠なものである。mTOR阻害剤であるrapamycinは主にリンパ球増殖抑制により免疫応答を阻害し、ラットにおいては腎臓および心臓移植拒絶反応を抑制することが示されている。rapamycinは細胞質タンパクFKBP12(FK506 binding protein)と複合体を形成し、リンパ球増殖に関与するキナーゼ活性を阻害する¹⁰⁾。mTORは生体の様々な機能に不可欠であることから、当初よりその薬剤の使用には懸念があったが、一定量の用量・用法であればこれらの副作用等は容認できるものと報告されている。また免疫抑制剤としての開発途中にはすでにヒト癌細胞株パネルに対する検討が行われており、一部の細胞株ではp53やPTEN等の癌抑制遺伝子の変異ヒト腫瘍細胞において高感受性であること¹¹⁾、さらに他の抗癌剤、とりわけ白金製剤の感受性を改善することが報告されているが、その詳細な作用機序については未だ不明である。さらに近年ではrapamycinがVEGFを介した血管新生の阻害効果を持つことが報告され、その阻害にHIF-1 α の仲介も判明した。Gubaらは免疫抑制に用いられている用量のrapamycinが癌転移モデルおよび腫瘍移植モデルにおいて著明な抑制効果を発揮し、その作用機序として血管内皮細胞の増殖および管腔形成を共に抑制することを報告している¹²⁾。すでにHIF-1の活性化にはPI3K経路の関与が報告されているが、HudsonらはmTORがこの活性化経路において正の調節因子として働き、mTORの阻害によってHIF-1 α mRNAの翻訳が抑制されることを示している¹³⁾。これらの結果から、mTORがHIF-1活性化経路の上流に位置すること、mTOR阻害による抗腫瘍効果にはHIF-1の抑制作用が関与することが推察される。

以上の背景、およびこれまでの我々の研究成果を足がかりにmTOR-HIF-1-VEGF経路の遮断による明細胞腺癌における新たな薬剤としてのrapamycinの可能性について探求した。すなわち、*in vitro*および*in vivo*における本薬剤の有効性について検討した。

材料・方法

- 培養株
ヒト卵巣明細胞腺癌由来培養株細胞株RMG-1を*in vitro*および*in vivo*実験に供した。10% FBS (GIBCO社)と1% Penicillin-Streptomycin (GIBCO社)を添加したHam's F-12培地 (GIBCO社)中にて、37°C・5% CO₂下において培養した。
- 薬剤
everolimus (NOVARTIS社)をDMSO (Sigma社)を用いて溶解後、Ham's F-12培地を溶媒とし、各濃度(0 nM, 80 nM, 100 nM)まで段階的に希釈した。
- 動物
6週齢(雌)のBALB/c AJcl-nu/nu(日本クレア株

式会社)を1週間馴化飼育し、実験に供した。実験期間中はマウスを12時間の明暗サイクルで、滅菌済み固形飼料および水を自由に摂取させることにより飼育管理を行った。

- HIF-1関連因子の各タンパクおよびHIF-1 α 分解経路、アポトーシス関連因子の発現変化の解析
細胞に各濃度のeverolimusを投与し、回収したサンプルを2 μ g/ μ lの濃度に調整した。その後、10% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、PVDF膜へ転写し、下記に示す抗体を用いてImmunoblottingを行った。各バンドから半定量的に各タンパクの発現量の変化について解析を行った。
- everolimusが細胞周期に与える影響についての解析
細胞に各濃度のeverolimusを投与し、6時間後に回収した。回収した細胞をスライドガラスに塗抹し、100%エタノールで固定した。その後、内因性ペルオキシダーゼ活性の除去を行い、Ki-67抗体[1:50 (DAKO社)]を用いて免疫組織化学酵素抗体間接法を行った。さらに顕微鏡下($\times 200$)にて陽性細胞数を計測し、その陽性率から増殖能の変化について解析を行った。
- everolimusが細胞の生存に与える影響についての検討
細胞に各濃度のeverolimusを投与し、6時間後に細胞を回収した。その後細胞液の一部を、トリパンブルー液を用いて染色し、血球計算板上で生細胞数の計測を行うことで、細胞の生存に対する影響について解析を行った。
- 明細胞腺癌移植モデルマウスを用いた抗腫瘍効果の検討
先に示した条件で培養した細胞(1 $\times 10^7$ cells / 0.2 ml)をヌードマウスに皮下移植し、腫瘍体積が約150 mm³に達した時点よりeverolimusの投与を開始した。投与はカルボキシメチルセルロースで溶解したeverolimus (2.5 mg/kg)を経口投与し、その後経時的に観察を行った。

結果

- everolimusが細胞死に与える影響についての検討(図1, 2)
非投与群に比較して投与群の細胞を観察したところ、細胞の形態に大きな変化は認められないものの、附着していた細胞は一部細胞死により培地中に浮遊している様子が観察された。同時に投与6時間後の細胞を回収し、トリパンブルー染色を用いて生細胞数について検討したところ、非投与群では8.7 $\times 10^6$ cells認めたが、投与群では6.6 $\times 10^6$ cellsと約25%の細胞死を認めた。
- everolimusが細胞増殖能に与える影響についての検討(図3, 4)
細胞増殖能を解析したところ、Ki-67 labeling indexは非投与群において17%であるのに比較して、

薬剤投与群においては11%と低下を認めた。

- everolimusによるHIF-1 関連因子の各タンパクおよびHIF-1 α 分解経路, アポトーシス関連因子の発現変化の解析 (図5)

mTORの発現は非投与群, 投与群の両者で発現の変化を認めなかったものの, p-mTORの発現においては非投与群に比較して, 投与群では有意に発現の低下を認めた。また, mTORのエフェクター因子の発現について解析したところ, p-4E-BP1, HIF-1 α , VEGFの発現は非投与群に比較して, 投与群において著明な発現の低下を認めたが, GLUT-1の発現においては両者の間に発現の変化は認めなかった。一方で, HIF-1 α の分解系における薬剤の影響を解析したところ, HIF-1 α のコビキチンリガーゼであるVHLの発現は非投与群に比較して, 投与群において発現の増

加が認められた。さらに薬剤とアポトーシスの関連性の解析から, cleaved caspase-3の発現は非投与群に比較して, 投与群において発現の増大を認めた。

- 明細胞腺癌移植モデルマウスを用いた抗腫瘍効果の検討 (図6)

本検討から薬剤投与群において57% (4/7) で腫瘍の縮小を認めた。とりわけ腫瘍縮小群の中でも50% (2/4) において腫瘍の消失を認め, 他の縮小群50% (2/4) においても腫瘍体積の60~70%の減量を認めた。一方, 非縮小群の中でも67% (2/3) は初回投与において腫瘍の縮小を認めたものの, 2回目以降は縮小傾向を認めず, 腫瘍体積は増大したことから, コントロール不能となった。また, 他の非縮小群33% (1/3) においては投与以前より著明な壊死を認め, 初回投与時より縮小傾向は全く認められなかった。

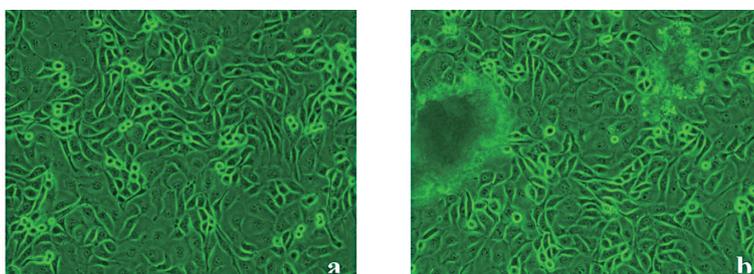


図 1. everolimusによる細胞の変化の様子. a: 非投与細胞 b: 投与細胞 (100nM, 6h)

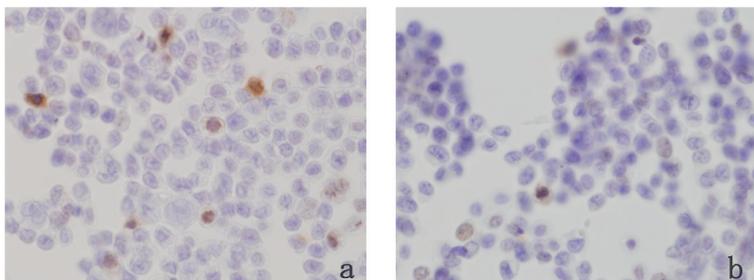


図 3. Ki-67 labeling Indexによるeverolimusが細胞増殖能に与える影響についての解析. a: 非投与細胞 b: 投与細胞 (100nM, 24h)

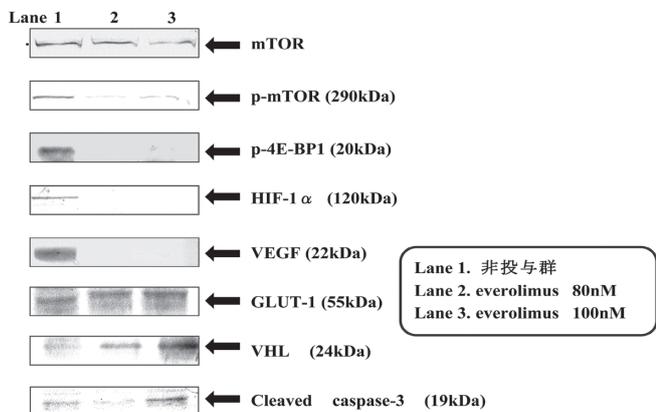


図 5. everolimusによるHIF-1 α 関連因子の各タンパクおよびHIF-1 α 分解経路, アポトーシス関連因子の発現変化。

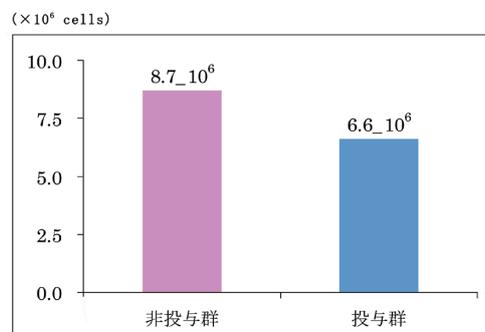


図 2. everolimusによる腫瘍細胞数の変化。

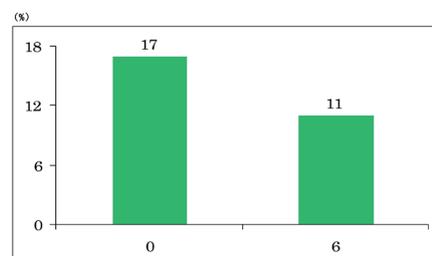


図 4. everolimusが細胞増殖能に与える影響についての解析。

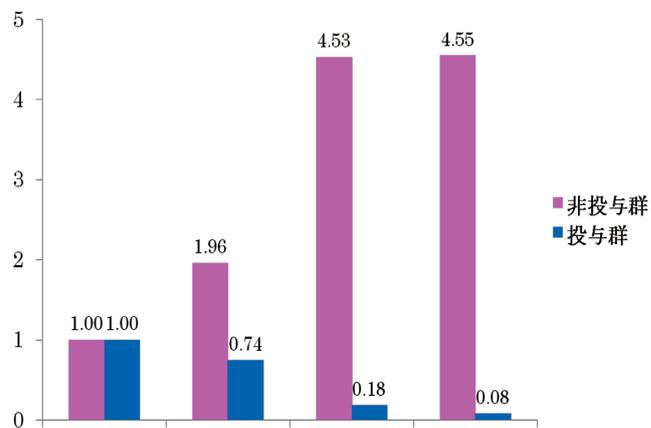


図 6. モデルマウスにおける everolimus 投与による腫瘍体積の変化。

考 察

HIF-1 α は低酸素応答を通じた生体の恒常性の維持のみならず腫瘍の増殖、進展において重要な役割を担っていることが知られている。我々は現在までに上皮性卵巣腫瘍におけるHIF-1 α の発現解析から明細胞腺癌が他の組織型に比して発現が優勢であり、明細胞腺癌の予後不良因子の一つである可能性を報告してきた。近年、このHIF-1 α の発現制御にmTORの存在が報告され⁹⁾、実際に明細胞腺癌においてphosphorylated-mTORの発現が亢進しておりmTOR-HIF-1シグナル伝達の活性化が推察されたことから、mTOR阻害に力点を置いた明細胞腺癌および他の卵巣腫瘍患者への新たな治療法の確立を目指して検討を遂行してきた^{14,15)}。

悪性腫瘍は、無秩序な増殖能を有することで自らをより低酸素な環境へと導き、これに順応するために複雑な分子機構を発動しながら浸潤性に進展していくものと考えられる。低酸素環境下で機能する分子には多くの腫瘍に共通性があるが、一方で腫瘍間ないしは組織型間で、発現分子に程度の違いがあることが推察される。悪性腫瘍の微小環境は酸素やグルコースの濃度、pHなどにより位置づけられており、腫瘍細胞の旺盛な増殖が微小血管の新生を惹起するものの、形成される血管が未熟で分布が不十分なために容易に虚血領域が生じる。その結果として、悪性度の高い腫瘍では広範に出血や壊死 necrosis を来たしやす。低酸素下で発現する分子の代表として「低酸素誘導性因子 HIF-1」がある。HIF-1は低酸素状況に応じて、血管新生因子であるVEGFやグルコースの能動輸送に関わるGLUT-1、あるいは赤血球増生を促すErythropoietin(EPO)などを



図 7. モデルマウスを用いた抗腫瘍効果の検討。
(著効例) a: 投与前 b: 著効例

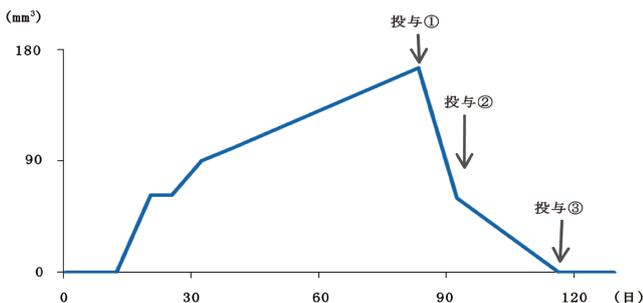


図 8. モデルマウスにおける everolimus 投与による腫瘍体積の変化。

誘導し個々の微小環境への適応を図っている^{6,8)}。

これまで我々は、「甲状腺腫瘍を対象にしたGLUT-1の発現解析」に端を発して「卵巣腫瘍におけるHIF-1 α とその関連因子の発現に着目した解析」を行ってきた。GLUT-1は甲状腺良性病変では基本的に発現しないのに対して、悪性腫瘍とりわけ乳頭癌において高度に発現することが認められ、臓器外進展とリンパ節転移にも密接に関わっていることを報告した¹⁶⁾。一方、上皮性卵巣腫瘍では、GLUT-1の発現がHIF-1 α によって概ね制御されており、これらの発現は乳頭状増殖を特徴とする漿液性腺癌および明細胞腺癌で顕著であることが明らかにされた¹⁷⁾。また、HIF-1 α とGLUT-1の発現は、腺腫・境界悪性・悪性へと腫瘍が進展するにしたがって増強し、その程度が粘液性腫瘍に比べて明らかに漿液性腫瘍で強いことを証明した¹⁸⁾。したがって、以上の結果から、HIF-1 α ・GLUT-1の発現は、良悪のみと関連するのではなく、組織型(腫瘍細胞の表現型)および増殖動態(胞巣構築・間質の多寡)に依存性が高いことが示唆された。さらに、免疫組織化学レベルでの半定量的結果を踏まえて、HIF-1 α の定量的解析を行い、「明細胞腺癌では他の組織型よりもHIF-1 α の発現量が多いこと」、「HIF-1 α の発現と腫瘍の大きさとの相関性は低いこと」、および「判定量的評価がほぼ定量的解析結果と合致していること」などを明らかにした¹⁹⁾。

昨今では治療に鑑みて、「低酸素環境下で発現する分子を抑制する薬剤の臨床応用」が漸次進行しつつある。なかでも、「第3の免疫抑制剤として注目されているマクロライド系抗生物質のラパマイシンに抗腫瘍効果がある」ことが近年明らかにされ、米国では既にラパマイシンの誘導体を用いた臨床試験での成果が発表されつつある。婦人科領域の腫瘍では子宮内膜癌での臨床応用が米国で試験的に進められている。すなわち、低酸素下でのHIF-1 α の活性化には、ラパマイシン標的タンパクmTORが正の調節因子として機能していることから、mTORを阻害することによるHIF-1 α の抑制作用が期待されている。その根拠に、ラパマイシンが癌転移・腫瘍移植モデルにおいて血管内皮の増生抑制があげられている¹²⁾。我々が行った卵巣明細胞癌再発株を用いた予備実験でも、ラパマイシンによってHIF-1 α およびVEGFの抑制が確認された。これを基に、明細胞腺癌ではリン酸化されたmTOR(phosphorylated-mTOR)が優勢に発現していることを発見し、さらにはラパマイシンの抗腫瘍効果をin vitroおよびin vivoで証明した^{14,15)}。

卵巣上皮性悪性腫瘍のなかでも従来の抗癌剤に抵抗性が高く、予後が相対的に不良で、かつ日本人に多いとされる明細胞腺癌を、「HIF-1 α と関連分子の発現」において特徴付けられたことは、今後の治療戦略の切り口になり得ると思われる。in vitroでの検討・動物移植腫瘍片での解析結果は、ラパマイシンが明細胞腺癌においても有効な薬剤であり得ることを示唆している。

先述のように、ラパマイシンの抗腫瘍効果を期待して、既に幾つかの固形腫瘍を対象にした臨床治験が米国を中心に行われ、その成果が認められている。しかしながら、本邦では卵巣腫瘍のみならず、実験的モデルレベルからの臨床応用可能なevidenceの報告には至っていない。本研究は、「本来、個別に行われるべき治療戦略の選択・決定に対しての病理的情報提供」を視野においたもので、我々の検討はHIF-1 α とその下流にある分子が包括的な治療標的になりうるか否かを解析するという点で独創的であるとともに、国際的臨床研究に大きく貢献できるものと確信する。

参考文献

- 1) Sugiyama T, Kamura T, Kigawa J, Terakawa N, Kikuchi Y, Kita T, Suzuki M, Sato I, Taguchi K. Clinical characteristics of clear cell carcinoma of the ovary: a distinct histologic type with poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy. *Cancer* 2000;88:2584-9.
- 2) Itamochi H, Kigawa J, Sugiyama T, Kikuchi Y, Suzuki M, Terakawa N. Low proliferation activity may be associated with chemoresistance in clear cell carcinoma of the ovary. *Obstet Gynecol* 2002;100:281-7.
- 3) Itamochi H, Kigawa J, Akeshima R, Sato S, Kamazawa S, Takahashi M, Kanamori Y, Suzuki M, Ohwada M, Terakawa N. Mechanisms of cisplatin resistance in clear cell carcinoma of the ovary. *Oncology* 2002;62:349-53.
- 4) Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992;12:5447-54.
- 5) Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1995;270:1230-7.
- 6) Semenza GL. Regulation of physiological responses to continuous and intermittent hypoxia by hypoxia-inducible factor 1. *Exp Physiol* 2006;91:803-6.
- 7) Semenza GL. Regulation of tissue perfusion in mammals by hypoxia-inducible factor 1. *Exp Physiol* 2007;92:988-91.
- 8) Ikeda E. Cellular response to tissue hypoxia and its involvement in disease progression. *Pathol Int* 2005;55:603-10.
- 9) Pore N, Jiang Z, Shu HK, Bernhard E, Kao GD, Maity A. Akt1 activation can augment hypoxia-inducible factor-1 α expression by increasing protein translation through a mammalian target of rapamycin-independent pathway. *Mol Cancer Res* 2006;4:471-9.
- 10) Chiu MI, Katz H, Berlin V. RAPT1, a mammalian homolog of yeast Tor, interacts with the FKBP12/rapamycin complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:12574-8.
- 11) Ravi R, Mookerjee B, Bhujwala ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1 α . *Genes Dev* 2000;14:34-44.
- 12) Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, Bruns CJ, Zuelke C, Farkas S, Anthuber M, Janch KW, Geissler EK. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8:128-35.
- 13) Hudson CC, Liu M, Chiang GG, Otterness DM, Loomis DC, Kaper F, Giaccia AJ, Abraham RT. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α expression and function by the mammalian target of rapamycin. *Mol Cell Biol* 2002;22:7004-14.
- 14) Fujita M, Yasuda M, Kitatani K, Miyazawa M, Hirabayashi K, Takekoshi S, Iida T, Hirasawa T, Murakami M, Mikami M, Ishiwata I, Shimizu M, Osamura RY. An up-to-date anti-cancer treatment strategy focusing on HIF-1 α suppression: its application for refractory ovarian cancer. *Acta Histochem Cytochem* 2007;40:139-42.
- 15) Miyazawa M, Yasuda M, Fujita M, Kajiwara H, Hirabayashi K, Takekoshi S, Hirasawa T, Murakami M, Ogane N, Kiguchi K, Ishiwata I, Mikami M, Osamura RY. Therapeutic strategy targeting at mTOR-HIF-1-VEGF pathway for ovarian clear cell adenocarcinoma. *Pathol Int* 2009;59:12-27.
- 16) Yasuda M, Ogane N, Hayashi H, Kameda Y, Miyagi Y, Iida T, Mori Y, Tsukinoki K, Minematsu T, Osamura Y. Glucose transporter-1 expression in the thyroid gland: clinicopathological significance for papillary carcinoma. *Oncol Rep* 2005;14:1499-504.
- 17) Yasuda M, Miyazawa M, Fujita M, Kajiwara H, Iida T, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Mikami M, Saitoh K, Shimizu M, Takekoshi S, Osamura RY. Expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and glucose transporter-1 (GLUT-1) in ovarian adenocarcinomas: difference in hypoxic status depending on histological character. *Oncol Rep* 2008;19:111-6.
- 18) Iida T, Yasuda M, Miyazawa M, Fujita M, Osamura RY, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Saito K,

Mikami M. Hypoxic status in ovarian serous and mucinous tumors: relationship between histological characteristics and HIF-1 α /GLUT-1 expression. Arch Gynecol Obstet 2008;277:539-96.

- 19) Miyazawa M, Yasuda M, Fujita M, Hirasawa T, Kajiwara H, Hirabayashi K, Ogane N, Shimizu M, Asanuma H, Murakami M, Takekoshi S, Mikami M, Osamura RY. Association of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) expression with histology in epithelial ovarian tumors: A quantitative analysis of HIF-1. Arch Gynecol Obstet 2008 (in press).

研究成果

論文

- 1) Kajiwara H, Kumaki N, Hirabayashi K, Miyazawa M, Nakamura N, Hirasawa T, Muramatsu T, Mikami M, Yasuda M, Osamura RY. A case of oncocytic carcinoma of the endometrium. Arch Gynecol Obstet 2009;279:733-8.
- 2) Kajiwara H, Hirabayashi K, Miyazawa M, Nakamura N, Hirasawa T, Muramatsu T, Mikami M, Yasuda M, Osamura RY. Immunohistochemical expression of somatostatin type 2A receptor in neuroendocrine carcinoma of uterine cervix. Arch Gynecol Obstet, 2009;279:521-5.
- 3) Hirabayashi K, Yasuda M, Kajiwara H, Itoh J, Miyazawa M, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Mikami M, Osamura RY. Alterations in mucin expression in ovarian mucinous tumors: immunohistochemical analysis of MUC2, MUC5AC, MUC6, and CD10 expression. Acta Histochem Cytochem 2008;41:15-21.
- 4) Yasuda M, Miyazawa M, Fujita M, Kajiwara H, Iida T, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Mikami M, Saitoh K, Shimizu M, Takekoshi S, Osamura RY. Expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and glucose transporter-1 (GLUT-1) in ovarian adenocarcinomas: difference in hypoxic status depending on histological character. Oncol Rep 2008;19:111-6.
- 5) Iida T, Yasuda M, Miyazawa M, Fujita M, Osamura RY, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Saito K, Mikami M. Hypoxic status in ovarian serous and mucinous tumors: relationship between histological characteristics and HIF-1 α /GLUT-1 expression. Arch Gynecol Obstet 2008;277:539-46.
- 6) Miyazawa M, Yasuda M, Fujita M, Hirasawa T, Kajiwara H, Hirabayashi K, Ogane N, Shimizu M, Asanuma H, Murakami M, Takekoshi S, Mikami M, Osamura RY. Association of hypoxia-inducible

factor-1 (HIF-1) expression with histology in epithelial ovarian tumors: A quantitative analysis of HIF-1. Arch Gynecol Obstet 2008 (in press).

- 7) Miyazawa M, Yasuda M, Fujita M, Kajiwara H, Hirabayashi K, Takekoshi S, Hirasawa T, Murakami M, Ogane N, Kiguchi K, Ishiwata I, Mikami M, Osamura RY. Therapeutic strategy targeting at mTOR-HIF-1 α -VEGF pathway for ovarian clear cell adenocarcinoma. Pathol Int 2009;59:19-27.
- 8) Hirabayashi K, Yasuda M, Kajiwara H, Nakamura N, Sato S, Nishijima Y, Mikami M, Osamura RY. Clear cell adenocarcinoma arising from adenomyosis: A case report. Int J Gynecol Pathol. 2008 (in press).
- 9) Mori Y, Tsukinoki K, Yasuda M, Miyazawa M, Kaneko A, Watanabe Y. Glucose transporter type 1 expression are associated with poor prognosis in patients with salivary gland tumors. Oral Oncol 2007;43:563-9.
- 10) Fujita M, Yasuda M, Kitatani K, Miyazawa M, Hirabayashi K, Takekoshi S, Iida T, Hirasawa T, Murakami M, Mikami M, Ishiwata I, Shimizu M, Osamura RY. An up-to-date anti-cancer treatment strategy focusing on HIF-1 α suppression: its application for refractory ovarian cancer. Acta Histochem Cytochem 2007;40:139-42.
- 11) Yasuda M, Shimizu M, Fujita M, Miyazawa M, Tang X, Kajiwara H, Osamura RY, Shoji S, Tokunaga M, Terachi T. Usefulness of hypoxia inducible factor-1 α in evaluating the prostatic adenocarcinoma viability following neoadjuvant hormone therapy. Cancer Detect Prev 2007;31:396-401.

学会発表

1. Masanori Yasuda, Shinichi Hori, Masaki Miyazawa, Hiroshi Kajiwara, Naoki Ogane, Michio Shimizu. Activated status of mTOR-HIF-1 α -VEGF pathway in ovarian clear cell adenocarcinoma. 98th Annual meeting of United States and Canadian Academy of Pathology, March 7-13, 2009, Boston.
2. 安田政実, 藤田麻里子, 宮澤昌樹, 平林健一, 梶原博, 平澤猛, 村松俊成, 村上優, 三上幹男. 卵巣明細胞腺癌・漿液性腺癌におけるHIF-1 α 活性化経路の探索. 第44回日本婦人科腫瘍学会学術集会. 平成20年7月17～19日. 名古屋.
3. 宮澤昌樹, 藤田麻里子, 梶原博, 平林健一, 平澤猛, 西島義博, 村松俊成, 村上優, 浅沼秀樹, 大金直樹, 榎木恵一, 木口一成, 安田政実, 長村義之. 卵巣明細胞腺癌におけるmTOR-HIF-1 α 経路抑制による抗腫瘍効果の検討. 第97回日本病理学会総会. 平成20年5月15～17日. 金沢.