

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：83901

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16795

研究課題名（和文）新規治療につながる抗癌剤耐性卵巣癌の分子標的：EMT転写因子ZEB1

研究課題名（英文）Molecular target of anticancer drug resistant ovarian cancer: EMT transcription factor ZEB1

研究代表者

坂田 純 (Sakata, Jun)

愛知県がんセンター（研究所）・がん予防研究分野・研究員

研究者番号：40778297

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では難治性再発卵巣癌治療の標的として、EMT転写因子ZEB1や結合組織成長因子CTGFが抗癌剤耐性や転移浸潤に関与し、今後の難治性卵巣癌の新たな治療標的として検討してきた。現在までに、ZEB1およびCTGFが上皮性卵巣癌の化学療法抵抗性と転移能力の両方で中心的な役割を果たすこと、またZEB1・CTGF各々の高発現が上皮性卵巣癌患者の臨床転帰不良の貴重な予測因子である可能性を示した。TGF- α およびZEB1・CTGFの相互関与について明らかにし、卵巣癌の治療標的としての重要性をさらに検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
卵巣癌治療において、抗癌剤耐性の獲得は予後に影響する重大な因子であり、本研究では難治性再発卵巣癌治療の標的として、ZEB1やCTGFの関与についてすでに論文で報告済みである。

研究成果の概要（英文）：In this study, EMT transcription factor ZEB1 and binding tissue growth factor CTGF are involved in anticancer drug resistance and metastatic infiltration as targets for the treatment of refractory recurrent ovarian cancer, and have been investigated as new therapeutic targets for refractory ovarian cancer in the future. ZEB1 and CTGF play a central role in both chemotherapy resistance and metastatic capacity of epithelial ovarian cancer, and high expression of each of ZEB1 and CTGF has poor clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer. It has been shown to be a valuable predictor. The mutual involvement of TGF- α and ZEB1 / CTGF was clarified, and its importance as a therapeutic target for ovarian cancer was further verified.

研究分野：卵巣癌

キーワード：再発卵巣癌 抗癌剤耐性 drug rechallenge

1. 研究開始当初の背景

卵巢癌治療において、抗癌剤耐性の獲得は予後に影響する重大な因子である。本研究では EMT 転写因子 ZEB1 が上皮性卵巢癌の抗癌剤耐性や転移浸潤、腫瘍血管新生に同時に関与する可能性について解明することを目的とし、ZEB1 と他の因子との相互関係を明らかにしながら難治性再発卵巢癌治療の標的として実用化を目指したい。

2. 研究の目的

本研究では難治性再発卵巢癌治療の標的として、EMT 転写因子 ZEB1 の分子生物学的作用について基礎実験を行い、さらに相互作用として関与する TGF- β や結合組織成長因子 CTGF が抗癌剤耐性や転移浸潤に関与し、今後の難治性卵巢癌の新たな治療標的として検討する。

3. 研究の方法

1.2. 共培養系での癌細胞および腹膜中皮細胞から分泌される TGF- β 刺激による抗癌剤耐性細胞の相違を解析する目的で、ZEB1 の発現の強い抗癌剤耐性細胞と腹膜中皮細胞の上清中の TGF- β 濃度を ELISA にて測定し、コントロールと比較し TGF- β 濃度を比較し、さらに抗癌剤耐性株を siRNA で ZEB1 抑制をし分子解析を行う。ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) 培養系においてもその管腔形成能に対する効果、血管新生抑制効果を確認する。
3. class HDAC 阻害剤が ZEB1 関連の薬剤耐性を回復させることはすでに報告があるが、ZEB1 高発現抗癌剤耐性卵巢癌細胞にも応用し、HDAC 阻害剤による ZEB1 発現の抑制を Western blotting で確認し、その分子学的機序を検討する。抗癌剤耐性卵巢癌細胞株のマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行ったところ、高発現因子として CTGF (Connective tissue growth factor) があり、当因子の機能評価および ZEB1 との相互関係についても評価する。

4. 抗癌剤耐性卵巢癌細胞株のマイクロアレイによる遺伝子発現解析での高発現因子 CTGF の機能評価と上皮性卵巢癌の抗癌剤耐性や転移浸潤への相互作用について解析を行う。結合組織成長因子 (CTGF/CCN2) は、CCN ファミリーのメンバーに属しており、CTGF は、細胞増殖、遊走、血管新生および転移などの様々な攻撃的な腫瘍特性に関与することが報告されている。さらに、以前の研究によると、CTGF の発現は、乳癌、結腸直腸癌、骨肉腫などの抗腫瘍剤に対する化学療法抵抗性の獲得と密接に関連している。CTGF が上皮性卵巢癌の化学療法抵抗性と転移能力の両方で中心的な役割を果たすこと、および CTGF 陽性が EOC 患者の臨床転帰不良の貴重な予測因子である可能性があることと仮定し、CTGF 発現の予後への影響を調査し、EOC 細胞の進行における CTGF の機能を分析する。

5. 抗癌剤耐性に関連する臨床データにつき解析した。薬剤耐性は安定した遺伝的プロセスであると考えられてきたため、耐性化した治療薬の再使用は一般的に禁忌である。一方最近の研究では、化学療法および分子標的薬に関連する不安定で非遺伝性の後天性薬物耐性機序の役割を示唆しており、耐性化薬剤の休薬後に同じ治療(薬物再投与; drug-rechallenge)の再導入に患者が応答することが多くの癌腫で報告例がある。抗癌剤耐性卵巢癌において、耐性化薬剤の再導入による腫瘍再感作の可能性について検討する。

4. 研究成果

1.2. 共培養系での癌細胞および腹膜中皮細胞から分泌される TGF- β 刺激による抗癌剤耐性細胞の相違を解析する目的で、ZEB1 の発現の強い抗癌剤耐性細胞と腹膜中皮細胞の上清中の TGF- β 濃度を ELISA にて測定し、コントロールと比較し TGF- β 濃度が高いことを確認した。さらに抗癌剤耐性株を siRNA で ZEB1 抑制をしたところ、TGF- β 濃度は有意に低下した。これにより ZEB1 発現癌細胞から分泌される TGF- β によりさらなる抗癌剤耐性の獲得や転移浸潤の促進に関与している可能性が推測される。

3. class HDAC 阻害剤が ZEB1 関連の薬剤耐性を回復させるか、ZEB1 高発現抗癌剤耐性卵巢癌細胞にも応用し、HDAC 阻害剤による ZEB1 発現の抑制を Western blotting で確認した。それにより抗癌剤耐性が有意に改善しており、今後はその分子学的機序を検討する。抗癌剤耐性卵巢癌細胞株のマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行ったところ、高発現因子として CTGF (Connective tissue growth factor) があり、当因子の機能評価および ZEB1 との相互関係についても評価中である。

4. CTGF の発現が上皮性卵巢癌患者の予後不良と有意に相関していることを明らかにした。CTGF 高発現を伴うものは、低発現よりも OS および PFS 率が低いことを示した。CTGF 高発現を伴う患者の生存率が低い理由としては、CTGF の発現抑制によりパクリタキセル

感受性が大幅に回復し、パクリタキセル抵抗性細胞の浸潤性/運動性が低下しており、パクリタキセル耐性と転移能力の両方の発達/維持が CTGF 発現に起因することを示唆された。

5. 1998 年から 2014 年までの期間中、抗癌剤耐性再発卵巢癌患者 152 人を調査した。進行卵巢癌初回治療の TC 療法は卵巢癌の初期治療でとくに効果が高い一方で、薬剤耐性化後の再発癌において毒性の問題から多剤併用が推奨されておらず、今までに検討されてきていないということに着目し、TC rechallenge 症例 18 例について検討した。TC rechallenge が奏功した 6 症例について、3 例 (50%) が初回治療で TC 耐性 (非寛解、もしくは 6 カ月未満の再発) であった。その 3 例とも他剤への変更および腫瘍減量手術を介して、TC rechallenge が行われ効果を得た。TC rechallenge 奏功 6 例を有効群、病状進行 12 例を進行群とし、生存データについて検討した。TC rechallenge が有効であれば PFS および OS が有意に延長し、臨床学的因子は、初回再発までの期間が 6 カ月以上、前回治療から TC rechallenge までに手術あり、TC rechallenge 導入時に腹水 (癌性腹膜炎) なしに関連していた。

難治性卵巢癌における TGF- β および ZEB1、CTGF(Connective tissue growth factor)の抗癌剤耐性などの高悪性度に関与する機能評価および相互関係についても解析を行った。得られた結果についてすでに論文で報告済みである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shimbo Akiko, Kajiyama Hiroaki, Tamauchi Satoshi, Yoshikawa Nobuhisa, Ikeda Yoshiki, Nishino Kimihiro, Suzuki Shiro, Niimi Kaoru, Sakata Jun, Kikkawa Fumitaka	4. 巻 42(6)
2. 論文標題 Expression of connective tissue growth factor as a prognostic indicator and its possible involvement in the aggressive properties of epithelial ovarian carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 2323-2332
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/or.2019.7352	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 -

〔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 坂田 純
2. 発表標題 EMT転写因子ZEB1と化学療法抵抗性卵巣癌の転移抑制およびバクリタキセル抵抗性の関与
3. 学会等名 婦人科がんオマーカー研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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