

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591940

研究課題名（和文） 上皮性卵巣癌における間質 - 腫瘍相互作用の臨床的意義の解明

研究課題名（英文） Interaction between cancer cells and stroma in epithelial ovarian cancer.

研究代表者

津田 浩史 (TSUDA HIROSHI)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：00423880

研究成果の概要：

標準治療を受けた表層上皮性卵巣癌を対象に、癌実質・間質毎に発現解析を施行した。再発の有無と関連する遺伝子を、実質 50 個を抽出した。実質で抽出された遺伝子は 2 ヶ所の染色体に集中しており、この部位の遺伝子増幅が再発の有無と関連していた。現在、RT-PCR 法により、validation assay を施行中である。また間質については、現在、最終解析中を予定している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：婦人科腫瘍学

## 1. 研究開始当初の背景

卵巣癌の治療成績の向上には(1)早期発見、(2)治療成績の向上が必須である。卵巣癌の治療は手術療法と化学療法からなるが、過去20年間で認められた予後の改善は、新規抗がん剤によるところが多い。卵巣癌は有効なスクリーニングがなく、その大半は進行した状態で発見される。手術療法と化学療法により、ほとんどの症例は臨床的寛解に持ち込めるが、大半は再発をきたし、その場合は抗がん剤耐性になっていることが多い。そのため更なる

予後の改善には、癌の進展様式および抗癌剤耐性機序を解明することが重要と考えるが、これまでは癌細胞自体をターゲットとした研究がなされてきた。しかしながら癌細胞の性格を規定する因子は、癌細胞自体の性格だけではなく、癌周辺の間質細胞や炎症細胞からの影響(宿主因子)も重要である。例えば転移実験モデルにおいては、移植した腫瘍の増殖する部位が正所(移植腫瘍が発生した部位と同一)である場合のほうが、異所に移植した場合より転移を起こしやすいという現象が報告

されている。即ち癌の進展には癌の進展に適した微小環境が必要であり、これは癌周辺の微小组織環境における増殖因子やサイトカインなどの関与が想定される。また癌周辺の微小環境が、抗癌剤感受性と関連するとの報告もある。しかしながらこれらの「間質と腫瘍の相互作用」は重要性が強く認識されているものの、臨床例で検討することは困難であり、ほとんど明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

癌の性格を規定する因子は、癌細胞自体だけでなく癌周囲の間質細胞や炎症細胞からの影響（宿主因子）も重要であるが、これまで間質に焦点をあてた報告は少ない。本研究では発現解析により卵巣癌の癌実質および間質の両面から、抗がん剤感受性や癌の進展に関与する遺伝子を探索する。

## 3. 研究の方法

【対象】卵巣癌II-IV期症例で初回術後化学療法としてcarboplatin+paclitaxel (TC)療法を施行した140例。なお抗がん剤感受性が著しく低い明細胞癌と粘液性腺癌は対象から除外した。33例はマイクロアレイ解析に、107例はRT-PCRによるvalidation assayに使用した。アレイ解析した33例の臨床進行期は(IIc:4, III:19, IV:10)で、107例の臨床進行期は(IIc:12, III:74, IV:21)であった。

【方法】 Laser captured microdissection (LCM): microdissection system pixcell IIにより癌実質および間質毎にLCMを施行し、PicoPure RNA Isolation KitにてRNAを抽出する。T7 amplification法でRNAを増幅させ、GeneChip(Affymetrics社製)で発現解析を施行。増悪例と無増悪例の間で、発現プロファイルを比較検討し、予後と関連する候補遺伝子を抽出した。新たな卵巣癌107例で、抽出

した候補遺伝子を対象に定量的PCR法でvalidation assayを施行した。

## 4. 研究成果

LCM1回当たりに抽出できた平均RNA量は実・間質でそれぞれ68ng・9.4ngであり、発現解析に必要なRNA(100ng)を抽出するには、それぞれ2回、10回のLCMが必要であった。そして解析に必要なRNAを得るため、のべ520回のLCMを施行した。

実質の発現解析: BRB Array Tools software ver. 3.3.0により解析した。P<0.001で有意とすると、発現の異なる50遺伝子が抽出された(図1)。そして16(13%)遺伝子は8q24に、9遺伝子(19.6%)は20q11-13に位置していた。各染色体毎の解析遺伝子数から算出しても、両染色体に集中していた(図2)。

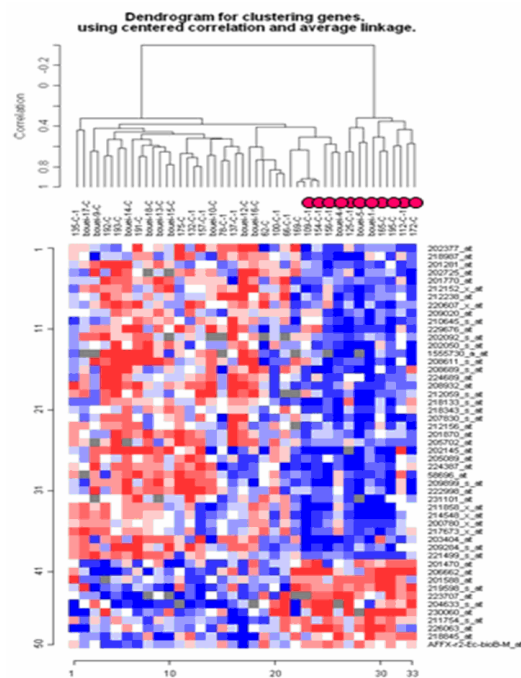


図1

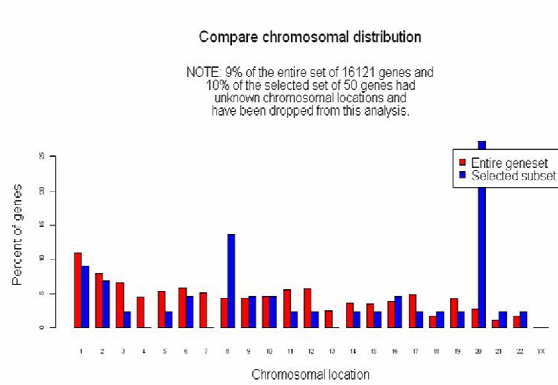


図2

8q24と20q11 -13にDNAレベルでの異常があることが示唆されたので、抽出された両領域にある8遺伝子につき、コピー数の解析を定量的PCR法にて実施した。解析した8遺伝子のうち、4遺伝子でコピー数の異常と無増悪生存期間とが有意に相関していた（図3a d）。

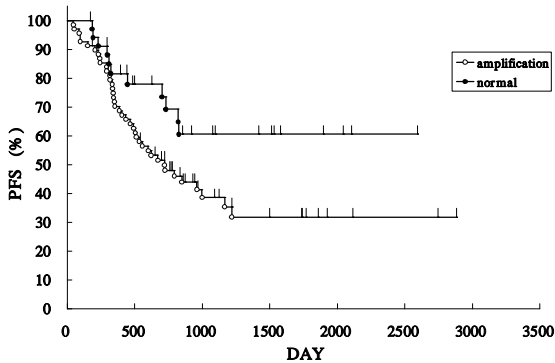


図3a (gene A: p=0.039)

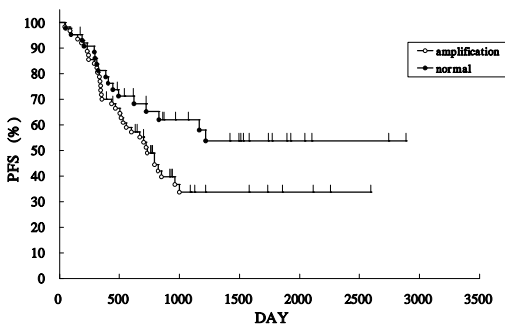


図3b (gene B: p=0.017)

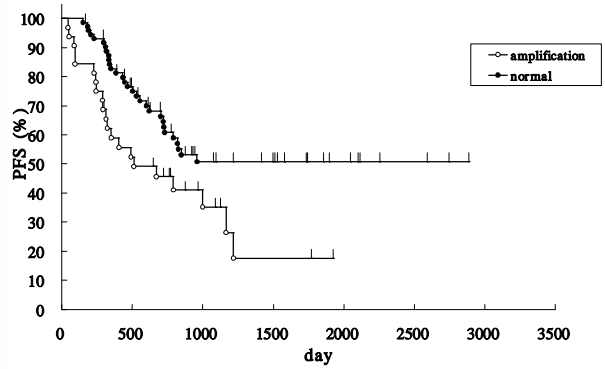


図3c (gene C: p=0.011)

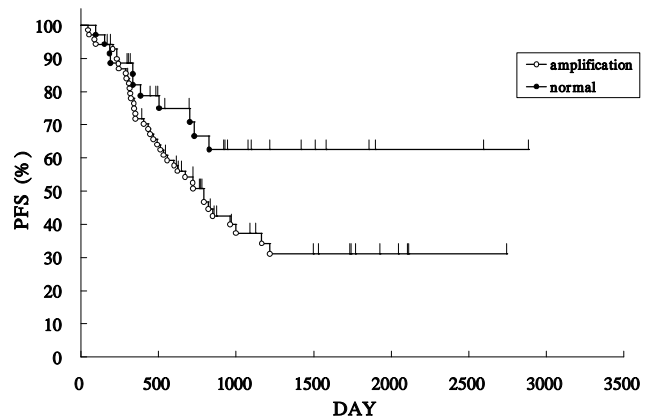


図3d (gene D: P=0.037)

間質の発現解析：同様の解析を間質においても施行した。p<0.005で有意と取ると、増悪例と無増悪例の間で発現に差のある遺伝子が52個抽出された。しかしながら実質と異なり、特定の染色体への分布は認められなかった。現在、間質遺伝子についてもvalidation assayを実施している。

## 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0件)

〔学会発表〕(計5件)

片岡史夫 津田浩史 富永英一郎 西村貞子 平沢晃 野村弘行 千代田達

幸 鈴木淳 進伸幸 青木大輔. 腫瘍 - 間質相互作用に着目した上皮性卵巣癌標準治療の効果予測システムの構築. 第46回日本婦人科腫瘍学会. 2009.7.10 新潟

富永英一郎 津田浩史 西村貞子 千代田達幸 野村弘行 片岡史夫 鈴木淳 平沢晃 進伸幸 青木大輔. 標準治療を受けた表層上皮性卵巣癌の再発リスクを規定する遺伝子の探索. 第61回日本産科婦人科学会 高得点演題. 2009.4.5 京都

津田浩史 荒尾徳三 千代田達幸 野村弘行 進伸幸 青木大輔. 上皮性卵巣癌の再発リスクを規定する遺伝子の探索. 第7回日本臨床腫瘍学会 2009.3.20 名古屋

Tominaga E, Tsuda H, Arao T, Yamagami W, Nomura H, Hirasawa A, Suzuki A, Susumu N, Nishimura S, Aoki D, Nishio K. Expression profile of epithelial ovarian cancer patients receiving standard therapy: identification of prognosis-associated genes. 第67回日本癌学会ワークショップ. 名古屋 2008.10.30

Tsuda H, Arao T, Nishimura S, Kawamura N, Nishio K. Microdissection and extraction of RNA from cancer and stromal tissues in epithelial ovarian cancer. 第66回日本癌学会. 横浜 2007.10.3

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津田浩史(TSUDA HIROSHI)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 00423880

(2) 研究分担者

西尾和人(NISHIO KAZUTO)  
近畿大学・医学部・教授  
研究者番号: 10208134

荒尾徳三(ARAO TOKUZOU)  
近畿大学・医学部・講師  
研究者番号: 20441074

須藤保(SUDO TAMOTSU)  
神戸大学・医学研究科・医学研究員  
研究者番号: 50397824

青木大輔(AOKI DAISUKE)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号: 30167788

(3) 連携研究者

該当なし