

平成 22 年 6 月 24 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007～2009
課題番号：	19591946
研究課題名(和文)	卵巣癌におけるイレッサ、アバスタチンの白金製剤耐性解除の検討
研究課題名(英文)	Basic research of either bevacizumab or gefitinib in platinum-resistant ovarian cancer.
研究代表者	
	寺井 義人 (Terai Yoshito)
	大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：	90278531

研究成果の概要(和文)：抗 VEGF 抗体であるアバスタチンの卵巣癌に対する効果は、マウスを使った実験で、アバスタチン+CDDP 併用投与群で有意に増強された。卵巣癌における EGFR mutation は 29 個認められたが、EGFR mutation と臨床治療成績との相関はなかった。また、EGFR より下流標的分子である Akt をターゲットとする agent を検討したところ、再発卵巣癌治療に使われている Topotecan がシスプラチンによって誘導される Akt のリン酸化を抑制し、VEGF の発現も抑制することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

Combination therapy with bevacizumab and cisplatin for 3 weeks was associated with complete disappearance of all macroscopic evidence of disease in the nude mouse xenograft model. Twenty-nine EGFR mutations were detected in 24 of 102 patients with ovarian cancer. EGFR gene mutation status was not significantly related to survival time. Topotecan inhibits Akt kinase activity and VEGF transcriptional activation after Cisplatin treatment in platinum-resistant ovarian cancers. These results provide a rationale for using Topotecan in clinical regimens aimed at molecular targeting agents in platinum-resistant ovarian cancers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：耐性卵巣癌、分子標的治療、イレッサ

1. 研究開始当初の背景：卵巣癌は primary cytoreductive surgery と adjuvant chemotherapy が基本的治療であるが、生存率が最も低い婦人科癌である。その理由として、当初抗がん剤に感受性を示していてもしだいに耐性を示す場合が多いことが考えられる。ことに、転移病巣は多くの場合抗がん剤耐性を示す。したがって、1st line のレジメンとして代表的なシスプラチンおよびタキソールの耐性化の分子機構の解析とその解除を可能にすることは、卵巣癌に対する新たな治療戦略を考えるに当たり重要な課題である。また、近年日本が世界に先がけて肺非小細胞癌に認可した EGFR を標的とした分子標的薬剤イレッサ (Gefitinib) をはじめ、HER2 に対するハーセプチン (trastuzumab)、VEGF に対するアバスチン (bevacizumab) などいくつかの分子標的薬が開発されてきたが、これらの卵巣癌に対する効果と機序は未だに不明である。

2. 研究の目的：これらアバスチンやイレッサを用いた卵巣癌の薬剤耐性解除のみならず血管新生を介した浸潤・転移の制御についても検討し、卵巣癌の新たな治療戦略としての分子標的治療の確立について研究したいと考える。

3. 研究の方法：卵巣癌播種モデルマウスにアバスチンを単独、シスプラチンと併用投与し、その抗腫瘍効果を調べる。また、卵巣癌における EGFR mutation の頻度を調べ、EGFR シグナル分子である Akt などの発現、活性の意義を臨床的、基礎的に調べる。次に、シスプラチン耐性卵巣癌の耐性解除のメカニズムを解明し、その標的分子である Akt の活性を抑制する薬剤としての topotecan の効果について検討する。

4. 研究成果：抗 VEGF 抗体であるアバスチンの卵巣癌に対する効果は、VEGF 添加による腫瘍増殖能への影響はなかった。また、VEGF によって促進される創傷治癒や血管新生をアバスチンは抑制した。さらにヌードマウスによる卵巣癌 A2780 細胞株の腹膜播種転移モデルで、アバスチン単独投与群、CDDP 担剤投

与群、アバスチン+CDDP 併用投与群で見たところ、治療後3週間で、アバスチン+CDDP 併用投与群で有意に腹水産生を抑制され、抗腫瘍効果も増強された。さらに追加でアバスチンを投与することで、有意に生存期間の延長を認めた。卵巣癌におけるイレッサの標的分子である EGFR について、肺癌で示されているような EGFR mutation の有無について、卵巣癌 102 症例の病理組織標本を用いて EGFR 遺伝子の exon 18、exon 19、exon 21 についてダイレクトシーケンス法を用いて調べた。さらに、EGFR、リン酸化 Akt、リン酸化 ERK 抗体で免疫染色を行い、臨床病理学的因子と比較検討した。結果、EGFR mutation は 24 例に認めた。EGFR mutation と臨床治療成績との相関はなかった。EGFR タンパクの強発現症例では予後が悪い傾向にあった。リン酸化 Akt の過剰発現例では有意に無病生存期間の短縮が認められた。イレッサを臨床的に使用出来ない現状の中で、このような卵巣癌の EGFR mutation 症例におけるイレッサの臨床的効果の検討は今後必要となってくると考えられる。また、我々の検討では、卵巣癌においては、EGFR より下流標的分子である Akt をターゲットとした分子標的治療がより効果的と考えられる。そこで、我々は Akt をターゲットとする agent を検討したところ、再発卵巣癌治療に使われている Topotecan が Akt のリン酸化を抑制することを見いだした。再発卵巣癌では、シスプラチン耐性になっていることが多いが、シスプラチン投与によりシスプラチン耐性卵巣癌株 Ca-ov3 細胞が Akt をリン酸化し、apoptosis を抑制することを見いだした。この Akt のリン酸化は topotecan を投与することで抑制され、PARP cleavage を引き起こし、apoptosis を誘導することが判明した。さらに、Topotecan は HIF-1 $\alpha$  の核内移行を抑制し、VEGF の発現を抑制することを明らかにした。In vivo の実験では、ヌードマウス腹腔内に Caov3 細胞を 5X10<sup>6</sup> 個腹腔内投与し卵巣癌播種モデルを作成した。これにシスプラチン、Topotecan を単剤、併用で投与し見たところ、シスプラチン耐性卵巣癌株の Caov3 に対して、シスプラチン+Topotecan 併用投与では、有意に腹水産生を抑制し、播種病巣の抑制を認めた。以上のこ

とから、Akt をターゲットとした分子標的治療の有用性が証明され、Topotecan がこの有用な候補になり得ることを明らかにした。これらの結果は現在、論文投稿中である。

#### 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5件)

- ① Long-term follow-up of neoadjuvant intraarterial chemotherapu using an original four-lumen double balloon(4L-DB) catheter for locally advanced uterine cervical cancer.  
Terai Y, Kanemura M, Sasaki H, Tsunetoh S, Tanaka Y, Yamashita Y, Yamamoto K, Narabayashi I, Ohmichi M.  
Int J Clin Oncol 14P56-62, 2009  
査読 有
- ② Maintenance treatment with bevacizumab prolong survival in an in vivo ovarian cancer model.  
Mabuchi S, Terai Y, Morishige K, Kimura-Tanabe A, Sasaki H, Kanemura M, Tsunetoh S, Tanaka Y, Sakata Y, Burger R, Kimura T, Ohmichi M.  
Clin Cancer Res14(23)P7781 ~ 7789, 2008  
査読 有
- ③ 卵巣癌における分子標的治療の展望は？  
寺井義人、大道正英  
査読 無  
臨床婦人科産科 6 2 (4)P643~649、2008
- ④ 「卵巣癌における抗癌剤耐性の克服」  
寺井義人、大道正英  
臨床婦人科産科 62(10)P1332~1337、2008  
査読 無

[学会発表] (計6件)

- ① Topoisomerase 1 inhibitor である topotecan の in vivo における CDDP 耐性を解除の解明  
恒遠啓示、寺井義人、川辺紗智子、加藤壮介、藤岡聡枝、田中良道、佐々木浩、金村昌徳、田辺晃子、大道正英  
第46回日本癌治療学会総会  
2008年10月30日(木)~11月1日(土)  
会場：名古屋国際会議場
- ② 当科における白金製剤耐性卵巣癌における Gemcitabine 単剤療法の有効性  
佐々木浩、加藤壮介、川辺紗智子、藤岡聡枝、田中良道、恒遠啓示、金村昌徳、田辺晃子、寺井義人、大道正英  
第46回日本癌治療学会総会  
2008年10月30日(木)~11月1日(土)  
会場：名古屋国際会議場
- ③ 卵巣癌における EGFR 遺伝子の mutation、発現と AKT、ERK の活性化の臨床的意義」  
田中良道、寺井義人、加藤壮介、川辺紗智子、藤岡聡枝、佐々木浩、恒遠啓示、金村昌徳、田辺晃子、大道正英  
第46回日本癌治療学会総会  
2008年10月30日(木)~11月1日(土)  
会場：名古屋国際会議場
- ④ 卵巣癌における E G F R 遺伝子の発現および mutation と臨床治療成績  
田中良道  
第44回日本婦人科腫瘍学会学術集会  
2008年7月17日(木)~19日(土)  
会場：名古屋国際会議場
- ⑤ topoisomerase I inhibitor である topotecan は in vivo において CDDP 耐性を解除するか？  
恒遠啓示、寺井義人、金村昌徳、竹原幹雄、佐々木浩、田中良道、田辺晃子、大道正英  
第60回日本産科婦人科学会総会・学術講演会  
2008年4月12日(土)~15日(火)  
場所：パシフィコ横浜

- ⑥ Topoisomerase 1 inhibitor である  
topotecan の CDDP 耐性解除機構  
佐々木 浩、寺井義人、金村昌徳、竹原  
幹雄、恒遠啓示、田中良道、田辺晃子、  
大道正英  
第 60 回日本産科婦人科学会総会・学術講  
演会  
2008 年 4 月 12 日 (土) ～15 日 (火)  
場所：パシフィコ横浜

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

寺井 義人 (Terai Yoshito)  
大阪医科大学・医学部・講師  
研究者番号：90278531

### (2) 研究分担者

大道 正英 (Ohmichi Masahide)  
大阪医科大学・医学部・教授  
研究者番号：10283764

金村 昌徳 (Kanemura Masanori)  
大阪医科大学・医学部・講師  
研究者番号：40298782

田辺 晃子 (Tanabe Akiko)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号：70454543

佐々木 浩 (Sasaki Hiroshi)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号：80432491