

平成 21 年 5 月 8 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19599005

研究課題名（和文） 婦人科腫瘍の悪性転化における Ras シグナル経路活性化の意義の解明

研究課題名（英文） Role of Ras signaling pathway activation in oncogenic transformation of gynecologic malignancies.

研究代表者

織田 克利 (ODA KATSUTOSHI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 30359608

研究成果の概要：

Ras-PI3K (phosphatidylinositol 3'-kinase)経路は、p110 (*PIK3CA* 遺伝子)、*PTEN*、*K-Ras* 等の遺伝子発現異常により多くの癌で活性化され、細胞増殖に重要な役割を果たしている。我々は、PI3K の Class IA 触媒サブユニット p110 、 、 のどのアイソフォームが活性化されているのかを解析し、*PIK3CA* 変異株は、癌種によらず、常に p110 が優位に活性化していたこと、また、*PTEN* のみに変異を有する子宮体癌細胞株でも が優位であるものがみられ、PI3K 経路の活性化における p110 の重要性を明らかにした。また、*PIK3CA* 変異が、他の Ras-PI3K 経路の遺伝子発現異常と浸潤癌特異的に共存している意義について解析し、*PIK3CA* 変異は Late Event として、他の因子との共存により Ras-PI3K 経路をより強く活性化し、効率的に浸潤癌への悪性転化(Progression)を誘導していることを明らかとした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：Ras, PI3' kinase, gynecologic malignancy

1. 研究開始当初の背景

(1) Ras-PI3K 経路は様々な癌種で活性化されており、PI3K 経路阻害剤は分子標的治療薬として魅力的な候補であるが、PI3K の Class IA 触媒サブユニット p110 、 、 をいずれも阻害するため、正常組織への影響が懸念された。

(2) また、*PTEN*、*K-Ras* 変異、*HER2* 過剰発現

は、Early Event として非浸潤性病変においても高頻度に認められるが、一方、*PIK3CA* (p110)変異は、非浸潤癌では極めてまれで、浸潤癌で特異的に認められていた。我々はこれまで、*PIK3CA* 遺伝子変異が、上記の遺伝子発現異常と浸潤癌で高頻度に共存することを報告してきた。

2. 研究の目的

(1) 様々な癌における PI3K 経路の活性化に不可欠な p110 isoform を同定し、isoform 特異的な阻害剤の臨床応用への可能性を明らかにすることを最初の研究目的とした。

(2) 次に、PIK3CA 変異が、他の Ras-PI3K 経路の遺伝子発現異常と浸潤癌特異的に共存している意義を解明することを、もう一方の研究目的とした。

3. 研究の方法

(1) 子宮体癌細胞株 12 株のうち、PIK3CA/PTEN に変異を有する 5 株、PIK3CA/K-Ras に変異を有する 1 株、PTEN のみに変異を有する 4 株の計 10 株を、また、PIK3CA 変異を有する乳癌細胞株 5 株と大腸癌細胞株 2 株を対象とした。PI3K 経路の阻害剤として、Wortmannin、及び p110 isoform の選択的阻害剤 4 種類を 3 時間投与した後、Akt のリン酸化レベルを比較した。

(2) ヒト不死化乳腺細胞株に、変異型 Ras, 変異型 PIK3CA, PTEN shRNA の単独または複数を導入し、PI3K 経路活性化の程度を Aktser473 のリン酸化(p-Akt)を指標に検討した。また、変異型 Ras, 変異型 PIK3CA 導入による悪性への形質転換能を、単独/共存の場合で、Soft agar assay 法により比較した。

4. 研究成果

(1) PIK3CA 変異株は、癌種によらず、常に p110 が優位に活性化していた(図 1; を阻害する薬剤を加えたときのみ、Akt のリン酸化が抑えられる)。

(2) また、PTEN のみに変異を有する子宮体癌細胞株(4 株)でも が優位であるものが半数で、他の 2 株でも は部分的に PI3K 経路の活性化に關与していた。

[小括]: p110 の選択的阻害剤は、子宮体癌、乳癌、大腸癌に高い有効性をもつ可能性が示唆された。本研究をもとに、PI3K 経路が活性化されている子宮体癌、乳癌、大腸癌症例において、p110 選択的阻害剤の臨床応用の可能性が期待される。

(3) 変異型 Ras 導入や PTEN の発現抑制単独では、p Akt の上昇は軽度であったが、変異型 PIK3CA を導入すると、p Akt は強く誘導され、Akt の基質である GSK3 , Fox01/Fox03a, S6 等のリン酸化も著明に亢進した。

(4) 変異型 K-Ras, 変異型 PIK3CA とも単独では、Soft agar assay でコロニーを形成しなかったが、両変異共存株では、コロニー形成能が効率的に誘導された(図 2; K-Ras 変異と

PIK3CA 変異の共存により、軟寒天培地でのコロニー形成能が促進される)。

[小括]PIK3CA 変異以外の Ras-PI3K 経路の遺伝子発現異常は、非浸潤癌の腫瘍形成(Initiation)に強く關与し、PIK3CA 変異は Late Event として、他の因子との共存により Ras-PI3K 経路をより強く活性化し、効率的に浸潤癌への悪性転化(Progression)を誘導していることが示された。この結果は、PI3K 経路を標的とした分子標的治療法への開発に向けた基礎的なデータとして極めて重要である。

図 1

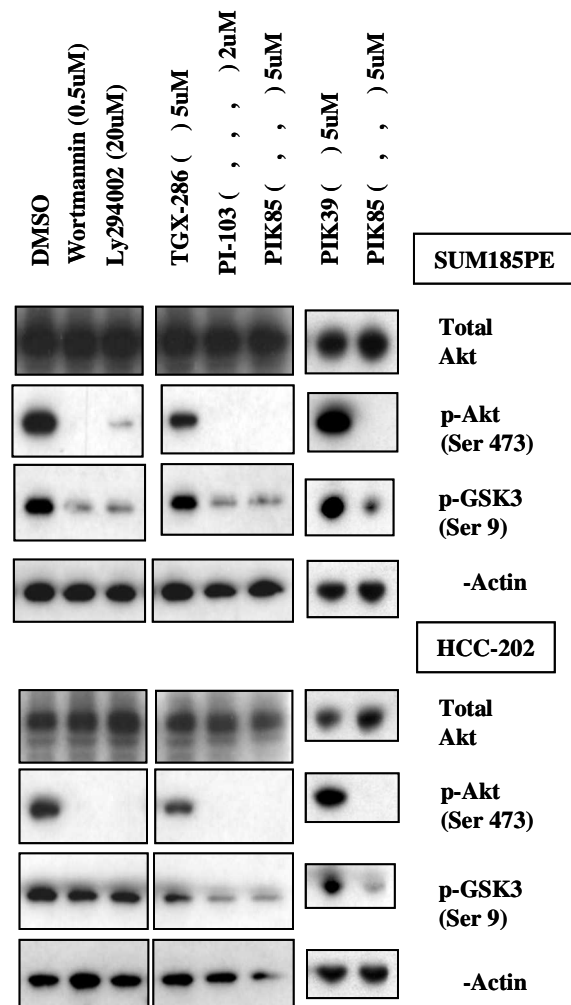
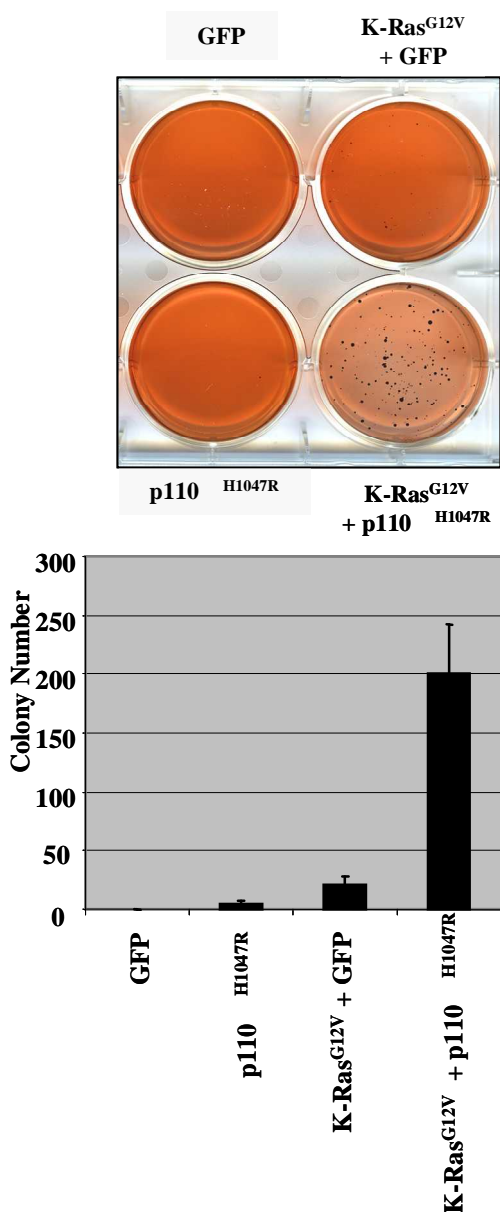


図 2



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4件)

1. Oda K, Okada J, Timmerman L, Rodriguez-Viciano P, Stokoe D, Shoji K, Taketani Y, Kuramoto H, Knight ZA, Shokat KM, McCormick F. PIK3CA cooperates with other phosphatidylinositol 3'-kinase pathway mutations to effect oncogenic transformation. *Cancer Res.* 2008 Oct 1;68(19):8127-36. 査読有

2. Tsuruga T, Nakagawa S, Watanabe M,

Takizawa S, Matsumoto Y, Nagasaka K, Sone K, Hiraike H, Miyamoto Y, Hiraike O, Minaguchi T, Oda K, Yasugi T, Yano T, Taketani Y. Loss of Hugl-1 expression associates with lymph node metastasis in endometrial cancer. *Oncol Res.* 2007;16(9):431-5. 査読有

3. Sone K, Nakagawa S, Nakagawa K, Takizawa S, Matsumoto Y, Nagasaka K, Tsuruga T, Hiraike H, Hiraike-Wada O, Miyamoto Y, Oda K, Yasugi T, Kugu K, Yano T, Taketani Y. hScrib, a human homologue of Drosophila neoplastic tumor suppressor, is a novel death substrate targeted by caspase during the process of apoptosis. *Genes Cells.* 2008 Jul; 13(7):771-85. 査読有

4. Zhao L, Watanabe M, Yano T, Yanagisawa J, Nakagawa S, Oishi H, Wada-Hiraike O, Oda K, Minaguchi T, Yasugi T, Kato S, Taketani Y. Analysis of the status of the novel estrogen receptor alpha (ERalpha) coactivator p72 in endometrial cancer and its cross talk with erbB-2 in the transactivation of ERalpha. *Molecular Medicine Reports.* 2008 1: 387-390 査読有

[学会発表](計7件)

1. Oda K PIK3CA mutation, as a late-stage event, cooperates with earlier activation of the PI3K pathway to effect oncogenic transformation. 2008 AACR (American Association for Cancer Research) special conference; Targeting the PI3-Kinase Pathway in Cancer 2008年11月12日 Boston, MA, USA

2. 庄司 恵子、織田 克利 PI3K 経路に変異を有さない子宮体癌の臨床的特徴と予後不良因子としての可能性. 第67回 日本癌学会総会 2008年10月28日名古屋

3. 織田 克利 PIK3CA 遺伝子変異と Ras 遺伝子変異の共存は、Ras による transformation を効率的に誘導する. 第67回 日本癌学会総会 2008年10月28日名古屋

4. 織田 克利 子宮体癌の PI3K 経路活性化における p110alpha の優位性. 第60回 日本産科婦人科学会学術講演会 2008年4月12日 横浜

5. Oda K Dominant p110 α activation in endometrial cancer. 19th AACR-NCI-EORTC

International Conference; Molecular Targets and Cancer Therapeutics. 2007年10月23日
San Francisco, CA, USA

6. 織田 克利 Ras と PIK3CA の変異の共存による PI3K 経路の更なる活性化. 第66回 日本癌学会総会 2007年10月3日 横浜

7. 織田 克利 子宮体癌における PIK3CA, PTEN 遺伝子変異の高頻度の共存と PI3K-Akt 経路の活性化. 第59回 日本産科婦人科学会学術講演会 2007年4月16日 京都

〔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

織田 克利 (ODA KATSUTOSHI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 30359608

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし