

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09759

研究課題名(和文) 卵巣明細胞癌に対するNEFHを標的とした新規治療法の開発

研究課題名(英文) The NEFH pathway may be a novel therapeutic target for ovarian clear cell carcinoma

研究代表者

板持 広明 (ITAMOCHI, Hiroaki)

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：20314601

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣明細胞癌組織検体55例を用い、網羅的遺伝子解析を行った。NEFH遺伝子変異が49%にみられた。これらの変異と進行期ならびにPI3K/Akt経路の遺伝子変異や蛋白発現強度との間に関連はみられなかった。NEFH変異の有無と予後との関連を検討した結果、NEFH遺伝子変異を有する群の累積5年生存率は47%であり、変異がみられない群の70%に比して低い傾向がみられた。明細胞癌I-II期症例においては、NEFH遺伝子変異を有する群の累積5年生存率は64%であり、変異がみられない群の94%に比して有意に低かった。多変量解析の結果、臨床進行期とともにNEFH遺伝子変異の有無は独立予後因子となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣明細胞癌において、腫瘍組織中のNEFH遺伝子変異は有望な予後予測マーカーとなり得ることが示唆された。したがって、抗がん剤に抵抗性で予後不良な卵巣癌の一つである明細胞癌において、NEFHは重要なバイオマーカーであり、NEFH経路を標的とした新規治療戦略による予後改善が期待される。

研究成果の概要(英文)：We examined the incidence of NEFH gene mutations in ovarian clear cell carcinoma (OCCC) tissues and their correlation with clinical parameters. The mutations of NEFH gene were found in 49% (27/55) of OCCC. NEFH mutations were not associated with patient age, FIGO stage, PI3K or Akt gene mutations, or PI3K/Akt pathway protein expression levels. The 5-year overall survival rate for patients with NEFH mutations was lower than that for those without mutations (47% vs. 70%). The 5-year overall survival rate for FIGO stage I or II OCCC patients with NEFH mutations was significantly lower than that for those without mutations (64% vs. 94%). Multivariate analysis revealed that NEFH mutation was an independent prognostic factor for FIGO stage I or II OCCC patients. NEFH gene mutation is a promising biomarker that is predictive of patient outcomes and a potential target for OCCC.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣明細胞癌 NEFH バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

(1) 上皮性卵巣癌に対するタキサン化合物とプラチナ製剤との併用化学療法は高い奏効率を示し、その短期予後を改善した。しかしながら、再発卵巣癌の多くは化学療法に抵抗性を示し、長期予後はいまだ不良である。一方、近年増加傾向にある卵巣明細胞癌は化学療法の奏効率が **10%** 程度と非常に低く、進行例の予後は極めて不良である。卵巣癌治療において薬剤耐性は重要な予後因子であり、その克服や新規治療法の開発が切望されている。さらに、腫瘍の生物学的特性に基づいた治療の個別化や組織型別の治療法選択の必要性が指摘されている。

(2) これまでに「創薬コンセプトに基づく戦略的治療デザインの確立」卵巣がんにおける化学療法効果規定因子の探索(文部科学省次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム)において、明細胞癌組織検体を用いて、全エクソームシーケンス解析を行った結果、**neurofilament heavy (NEFH)** 遺伝子変異 **49%**にみられることをはじめて明らかにした。**NEFH** の機能解析はいまだ十分になされていないものの、その発現低下が様々な癌腫で認められ、腎細胞癌ではがん抑制遺伝子の一つとして報告されている。しかしながら、明細胞癌において **NEFH** のバイオマーカー(抗がん剤感受性、予後予測)や新規治療標的としての可能性は明らかではない。

2. 研究の目的

(1) **NEFH** 遺伝子は、神経細胞骨格の中心的構成成分である **neurofilament heavy protein (NF-H)** をコードしている。**NF-H** は神経フィラメントと脳ミトコンドリアとの相互作用に関与していると同時に、中枢神経系のシナプス後肥厚部において **β-catenin** との協調作用が示唆されている。また、食道癌細胞において **NEFH** は細胞増殖や腫瘍形成能を制御しており、その発現低下が **Akt/β-catenin** 経路の活性化を惹起し、解糖系やミトコンドリア機能を制御すると報告されている(図1)。そこで、臨床的検討により **NEFH** の明細胞癌におけるバイオマーカー(抗がん剤感受性、予後予測)としての可能性を検証する。

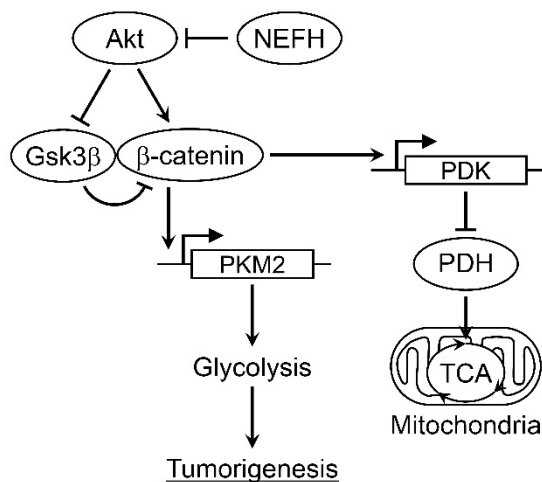


図1 NEFH/Akt/β-catenin経路と解糖系

(2) **NEFH** のがん抑制遺伝子としての可能性を検討するとともに、**NEFH/Akt/β-catenin** 経路を標的とした治療や抗がん剤耐性克服を試みる。

本研究では、明細胞癌に対する **NEFH** 発現の抗がん剤耐性への関与を検討するとともに、**NEFH** 発現が明細胞癌の予後に与える影響を知ろうとした。

3. 研究の方法

(1) **NEFH** の卵巣明細胞癌におけるバイオマーカーとしての可能性

2009年から2015年に岩手医科大学附属病院で治療を行った明細胞癌患者のうち、文書により同意の得られた56例を対象とした。初回手術時に得られた明細胞癌組織検体を用いて、**NEFH** および **Akt**、**mTOR**、**β-catenin**、**Ki-67** の蛋白発現を免疫組織化学で検討した。

一方、卵巣明細胞癌組織検体55例を対象として、網羅的遺伝子解析を行い、**NEFH** や **PI3k/Akt** 経路の遺伝子変異を検索した。

累積生存率は **Kaplan-Meier** 法で、有意差は **log-rank** 法を用いて検討するとともに、**Cox** の比例ハザードモデルを用いて予後因子解析を行った。

4. 研究成果

(1) NEFH の卵巣明細胞癌におけるバイオマーカーとしての可能性

対象症例の FIGO 進行期は IA 期 14 例、IC 期 22 例、II 期 4 例、III 期 12 例、IV 期 4 例であった。腫瘍組織中の Ki-67 陽性細胞率 (LI) の中央値は 12.5% (0.2-53.8%) であった。NEFH 発現と、Ki-67 LI や PI3k/Akt/mTOR/β-catenin 経路の蛋白発現強度との間に関連はみられなかった。

明細胞癌組織検体 55 例を用いた全エクソン・シーケンス解析では、NEFH 遺伝子変異が 49% (27 例) にみられた。NEFH 変異の有無と ARID1A や PIK3CA、HER2、AKT2 遺伝子変異の有無との間に関連はみられなかった (図 2)。

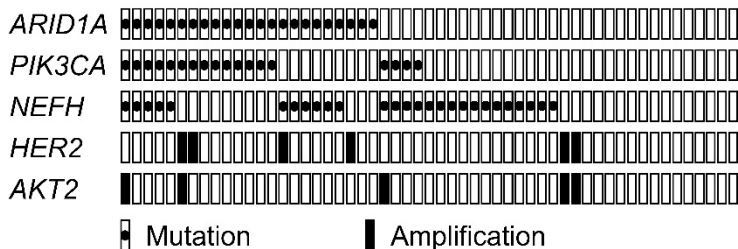


図2 卵巣明細胞癌の主な遺伝子異常

NEFH 変異の有無と予後との関連を検討した結果、NEFH 遺伝子変異を有する群の 5 年生存率は 47% であり、変異がみられない群の 70% に比して低い傾向がみられた ($p = 0.0725$) (図 3A)。一方、明細胞癌 I-II 期症例においては、NEFH 遺伝子変異を有する群の累積 5 年生存率は 64% であり、変異がみられない群の 94% に比して有意に低かった ($p < 0.05$) (図 3B)。多変量解析の結果、臨床進行期とともに NEFH 遺伝子変異の有無は独立予後因子となった [リスク比: 2.41 (1.02-6.09)] (表)。

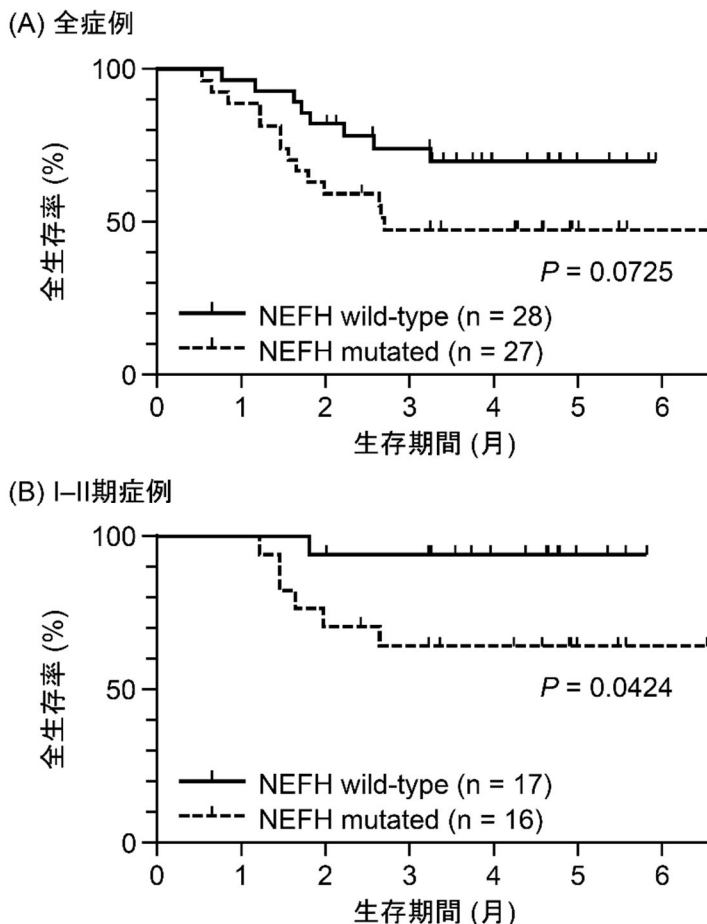


図3 NEFH遺伝子変異と全生存率

表 Cox の比例ハザードモデル

因子	ハザード比 (95% 信頼区間)	P 値
年齢	0.9738 (0.9347-1.0091)	0.1503
FIGO 進行期	5.3559 (2.2355-14.1499)	0.0001
I・II 期		
III・IV 期		
NEFH 変異	2.4124 (1.0202-6.0932)	0.0449
無し		
有り		

これらの成績から、**NEFH** 遺伝子変異は卵巣明細胞癌における予後予測マーカーとなり得ることが示唆された。**NEFH** 経路を標的とした新規治療戦略による予後改善が期待される

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Shoji T, Tatsuki S, Abe M, Tomabechi H, Takatori E, Kaido Y, Nagasawa T, Kagabu M, Baba T, Itamochi H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Novel therapeutic strategies for refractory ovarian cancers: Clear cell and mucinous carcinomas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1~23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13236120	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 -
1. 著者名 Kim KK, Singh RK, Khazan N, Kodza A, Singh NA, Jones A, Sivagnanalingam U, Towner M, Itamochi H, Turner R, Moore RG	4. 巻 10
2. 論文標題 Development of Potent Forchlorfenuron Analogs and Their Cytotoxic Effect in Cancer Cell Lines	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-59824-4	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 -
1. 著者名 Kolendowski B, Valdes YR, Hirte H, Itamochi H, Lee W, Carey M, Shepherd TG, DiMattia GE	4. 巻 9
2. 論文標題 Characterization of Mutational Status, Spheroid Formation, and Drug Response of a New Genomically-Stable Human Ovarian Clear Cell Carcinoma Cell Line, 105C	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2408~2408
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells9112408	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 -
1. 著者名 Sato C, Osakabe M, Nagasawa T, Suzuki H, Itamochi H, Baba T, Sugai T	4. 巻 20
2. 論文標題 Genome-wide analysis of microRNA to evaluate prognostic markers in isolated cancer glands and surrounding stroma in high-grade serous ovarian carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2020.12198	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 板持広明
2. 発表標題 婦人科がんの分子生物学的特性
3. 学会等名 第52回日本婦人科病理学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 板持広明
2. 発表標題 婦人科癌におけるゲノム情報の活用
3. 学会等名 第61回日本臨床細胞学会（秋期大会）
4. 発表年 2022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
研究分担者	庄子 忠宏 (SHOJI Tadahiro) (00337148)	岩手医科大学・医学部・特任准教授 (31201)	
研究分担者	永沢 崇幸 (NAGASAWA Takayuki) (10453309)	岩手医科大学・医学部・助教 (31201)	
研究分担者	苔米地 英俊 (TOMABECHI Hidetoshi) (10771363)	岩手医科大学・医学部・助教 (31201)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	利部 正裕 (KAGABU Masahiro) (30382609)	岩手医科大学・医学部・講師 (31201)	
研究分担者	佐藤 誠也 (SATO Seiya) (30621007)	岩手医科大学・医学部・助教 (31201)	
研究分担者	深川 安寿子 (FUKAGAWA Yasuko) (30772511)	岩手医科大学・医学部・任期付助教 (31201)	
研究分担者	馬場 長 (BABA Tsukasa) (60508240)	岩手医科大学・医学部・教授 (31201)	
研究分担者	小島 淳美 (KOJIMA Atsumi) (60508753)	岩手医科大学・医学部・講師 (31201)	

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