

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月29日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20591963

研究課題名（和文）卵巣明細胞腺癌の予後因子同定と予後判定バイオマーカー・分子標的治療薬の開発

研究課題名（英文）Search for prognostic factors and biomarkers for the survival of patients with ovarian clear cell carcinoma

研究代表者

高倉 聡（TAKAKURA SATOSHI）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：60256401

研究成果の概要（和文）：①CPT-P療法が初回治療の卵巣明細胞腺癌（CCC）ではpT分類が独立予後因子で、I期とpT1/pT2で至適に腫瘍減量された場合長期予後良好であった。②8遺伝子の免疫組織学的検討では、卵巣漿液性腺癌ではCyclin D1とp27Kipの免疫組織学的所見と予後が相関したが、CCCでは相関するものはなかった。③CCC検体のアレイCGHマイクロアレイ解析では3q27-29および12p12.2-13.33の増幅と4p15.2-15.32と11q22-25の欠失が予後不良因子であった。④免疫関連遺伝子の網羅的発現解析ではCCCでIL-6が高発現しており、siRNA法による発現抑制でCDDP・PTXのIC50は半分以下に減少したため、IL-6はCCCの薬剤耐性と関連が示され、IL-6シグナルは分子標的となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：1) In a retrospective review of 31 patients with clear cell adenocarcinoma of the ovary (CCC) who were treated with CPT-P, multiple regression analysis revealed that pT3 predicted worse OS in patients with CCC than pT1 or pT2 disease. 2) Immunohistochemical analysis for 8 genes was performed on tissue sections collected from 66 serous adenocarcinoma of the ovary (SAC) and 85 CCC. Overexpression of cyclin D1 and reduced expression of p27Kip1 were identified as independent predictors of OS in SAC, but not identified in CCC. 3) CGH array was performed using tumor DNA from 120 CCC patients. Amplifications of chromosomes 3q27-29 and 12p13.33-12.2, and loss of chromosomes 4p15.2-15.32 and 11q22.2-25 were positively correlated with poor progression free survival. 4) We analyzed the expression of 16 cytokine genes in 50 ovarian carcinomas. CCC showed dominant Th-2 cytokine expression pattern driven largely by IL-6 expression. Inhibition of IL-6 in CCC cells suppressed Stat3 signaling and rendered cells sensitive to cytotoxic agents. Modulation of IL-6 expression or its related signaling pathway may be a promising strategy of treatment for CCC.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
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：がん、卵巣、分子標的、化学療法、バイオマーカー、免疫組織化学

1. 研究開始当初の背景

上皮性卵巣癌は主に4つの組織型が含まれるが、本邦では化学療法に抵抗性で予後不良な明細胞腺癌が15~20%と欧米(約5%)に比較して著しく多い。卵巣明細胞腺癌に対しても化学療法は上皮性卵巣癌全体に準じてTC療法が行われることが多いが、欧米の大規模臨床試験では卵巣明細胞腺癌は2~5%しか含まれておらず十分に検討されているとはいえない。JGOG3014で塩酸イリノテカン、シスプラチン併用療法(CPT-P療法)の治療成績がTC療法の治療成績を上回る可能性があることから(Takakura S, et al. Int J Gynecol Cancer, 2010)、卵巣明細胞腺癌に対する初回化学療法としてCPT-P療法とTC療法を比較するランダム化第3相試験GCIG/JGOG3017が日本を中心とした国際協調試験として行われている。この試験で卵巣明細胞腺癌の標準化学療法が決まると考えられるが、卵巣明細胞腺癌に対して高い奏効率を示す新規抗がん剤の報告はなく、他の組織型と同様にcytotoxic agentのみでの治療成績はプラトーに達するものと思われる。卵巣明細胞腺癌の予後改善には、今後、分子標的治療薬の効果を検討する必要があると思われる。欧米では上皮性卵巣癌に対する各種分子標的治療薬の効果が検討されているが、これらは主に漿液性腺癌を中心とする非明細胞腺癌を対象としており、明細胞腺癌に対する検討はほとんどなされていないのが現状である。

一方、その発現が上皮性卵巣癌の予後因子となることが報告されているものとしてはTP53、CDKN1A(p21)、CDKN1B(P27KIP1)、ERBB2(Her-2/neu)、ERBB3、VEGF、CDH1(E-Cadherin)、EGFR、SPINT2(Bikunin)、PLAU(uPA)、TACATD1(Ep-CAM)、BARD1、MUC1、IDOなどがあげられる。しかしながら、こうした腫瘍関連遺伝子・蛋白の発現の有無・強弱・パターンが上皮性卵巣癌の予後因子であるという報告は、各々別々の研究機関からなされており、対象とした症例数もまちまちであり、組織型別は検討されていないことが多く、特に明細胞腺癌に関しての情報は少ない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、卵巣明細胞腺癌の予後因子同定と予後判定バイオマーカー・分子標的治療薬の開発を行うことで、本邦に多い卵巣明細胞腺癌の予後改善をはかることである。

3. 研究の方法

上記の目的達成のため、当研究では本研究

では以下の方法を計画した。

(1)臨床情報のデータベース化：初回化学療法にCPT-P療法もしくはTC療法を受けた卵巣明細胞腺癌症例の臨床情報を整理しデータベース化する。

(2)免疫組織学的所見が独立予後因子となる腫瘍関連遺伝子・蛋白の同定：既存の分子標的治療薬の標的分子もしくは文献上でその発現の有無・強弱・パターンが上皮性卵巣癌予後因子となることが報告されているか腫瘍関連蛋白について免疫組織学的検討を行う。臨床情報と比較検討(統計解析)することでその免疫組織学的所見が卵巣明細胞腺癌の独立予後因子となる腫瘍関連遺伝子・蛋白を同定する。

(3)既存分子標的治療薬の効果の検討：既存の分子標的治療薬が明細胞腺癌治療の候補となりうるかを明細胞腺癌細胞株を用いたin vitro・in vivoの実験を行う。

(4)予後判定バイオマーカーの開発：(2)の結果を用い、卵巣明細胞腺癌の予後を反映するバイオマーカーの開発を行う。

(5)新規分子標的治療薬の開発のための基礎的研究：(2)の結果を用い、上皮性卵巣癌に対する新規分子標的治療薬の開発のための基礎的研究(低分子阻害剤のスクリーニング、培養細胞株を用いたin vitroの実験)を行う。

4. 研究成果

本研究により、以下の研究成果を得た。

(1)データベースの一部を用い、初回化学療法にCPT-P療法を行った卵巣明細胞腺癌は、単変量解析ではPerformans status、臨床進行期、pT分類、残存腫瘍径が予後因子であり、多変量解析ではpT分類を独立予後因子として同定した。また、I期ならびにpT1/pT2で至適な腫瘍減量がなされた症例では長期予後が良好であったこと明らかにした(Kunito S et al, in press)。

(2)卵巣明細胞腺癌85例と比較対象の漿液性腺癌66例の手術検体のパラフィンブロックから免疫組織学的検討用の未染のスライドを作成し、文献上で既存の分子標的治療薬の標的分子もしくはその発現の有無・強弱・パターンが上皮性卵巣癌予後因子となることが報告されている腫瘍関連遺伝子の内[Cyclin D1、pRb、p16、p53、p27Kip1、

p21Waf1/Cip1, ID0] について免疫組織学的検討(蛋白発現の有無・強度・局在性)を行った。比較対象として行った卵巣漿液性腺癌では Cyclin D1 と p27Kip の免疫組織学的所見と予後(無増悪生存期間、全生存期間)との相関が認められたが(Hashimoto T et al, 2011)、明細胞腺癌では明らかではなかった。現在、卵巣漿液性腺癌・類内膜腺癌でその強発現が予後不良因子となることを我々が新たに同定した CD147 (Ueda et al, in press) について明細胞腺癌症例を対象に検討を進めている。

(3) 卵巣明細胞腺癌日本人症例 120 例と外国人症例 62 例の検体を用いてアレイ CGH マイクロアレイ解析を行い、日本人で EGFR の増幅が有意に高頻度に認められることを明らかにした。現在、卵巣明細胞腺癌症例と細胞株を用いた EGFR 変異解析を行っている。EGFR 変異が同定された細胞株を用いゲファチニブの効果の検討を行っている。

また、3q27-29 および 12p12. 2-13. 33 の増幅と 4p15. 2-15. 32 と 11q22-25 の欠失が予後不良因子であり、特に上記のうち、3-4 領域の変化を持つ場合は 1-2 領域の変化を持つ場合より有意に予後不良であった。今後、この領域に存在する遺伝子に着目し予後判定バイオマーカーの開発を行う。

(4) 免疫関連遺伝子の網羅的発現解析により、卵巣明細胞腺癌で IL-6 が高発現しており、siRNA 法にて IL-6 発現を抑制したところ、CDDP および PTX の IC50 は半分以下に減少したため、IL-6 は卵巣明細胞腺癌の薬剤耐性と関連が示され、IL-6 シグナルは分子標的となる可能性が示唆された(Yanaihara N, et al, submitted)。

(5) 卵巣明細胞腺癌ではグリコーゲンが細胞質内に多くみられることに着目し、その機序を解明すべく基礎的研究を行ったところ、卵巣明細胞腺癌細胞株 HAC2 は低酸素培養により細胞内のグリコーゲン量が増加することが確認され、その機序はグリコーゲン合成促進であることが示された(Iida Y et al, Int J Oncol, 2012)。

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 Shiro Kunito, Satoshi Takakura, Chie Nagata, Motoaki Saito, Nozomu Yanaihara, Kyosuke Yamada, Aikou Okamoto, Hiroshi Sasaki, Kazunori

Ochiai, Tadao Tanaka. Long-term survival in patients with clear cell adenocarcinoma of ovary treated with irinotecan hydrochloride plus cisplatin therapy as first-line chemotherapy. J Obstet Gynecol Res, in press.

査読有

- ② Kazu Ueda, Kyosuke Yamada, Takako Kiyokawa, Yasushi Iida, Chie Nagata, Tomomi Hamada, Misato Saito, Katsuhiko Aoki, Nozomu Yanaihara, Satoshi Takakura, Aikou Okamoto, Kazunori Ochiai, Kiyoshi Ohkawa, Tadao Tanaka. A pilot study of CD147 protein expression in epithelial ovarian cancer using monoclonal antibody 12C3. J Obstet Gynecol Res, in press.

査読有

DOI:10.1111/j.1447-0756.2012.01853.x.

- ③ Yasushi Iida, Katuhiko aoki, Tadashi Asakura, Kazu Ueda, Nozomu Yanaihara, Satoshi Takakura, Kyosuke Yamada, Aikou Okamoto, Tadao Tanaka, Kiyoshi Ohkawa. Hypoxia promotes glycogen synthesis and accumulation in human ovarian clear cell carcinoma. Int J Oncol, 40: 2122-2130, 2012.

DOI: 10.3892/ijo.2012.1406

査読有

- ④ Tomoko Hashimoto, Nozomu Yanaihara, Aikou Okamoto, Takashi Nikaido, Misato Saito, Satoshi Takakura, Makoto Yasuda, Hiroshi Sasaki, Kazunori Ochiai, Tadao Tanaka. Cyclin D1 predicts the prognosis of advancedserous ovarian cancer. Experimental and therapeutic medicine. 2:213-219,2011.

査読有

DOI: 10.3892/etm.2011.194

- ⑤ 高倉 聡. 卵巣がんに関する最新トピックス明細胞腺癌の最新情報. 産婦の実際 2010; 59: 1493-1499.

査読無

[学会発表] (計 7 件)

- ① 飯田 泰志, 他. 卵巣明細胞腺癌細胞株 HAC2 の低酸素培養によるグリコーゲン蓄積とその機序の解明. 第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会. 2012 年 4 月 14 日. 神戸国際展示場.

- ② Aikou Okamoto, et al. Genes associated with biological characteristics of ovarian clear cell carcinoma. The 17th international meeting of the european society of gynecological oncology. 2011.09.13. Milan, Italy.
- ③ 矢内原 臨、他. 卵巣明細胞腺癌におけるIL-6 シグナルに関する検討. 第63回日本産科婦人科学会学術講演会. 2011年8月30日. 大阪国際会議場.
- ④ 岡本 愛光、他. 卵巣明細胞癌の生物学的特徴を規定する遺伝子の検索. 第63回日本産科婦人科学会学術講演会. 2011年8月30日. 大阪国際会議場.
- ⑤ 飯田 泰志、他. 卵巣癌におけるCD147と Monocarboxylate transporter (MCT)4との相関. 第63回日本産科婦人科学会学術講演会. 2011年8月30日. 大阪国際会議場.
- ⑥ 高倉 聡、他. 卵巣明細胞腺癌初回化学療法としてのシスプラチン・イリノテカン療法の長期治療成績. 第62回日本産科婦人科学会学術講演会. 2010年4月25日. 東京国際フォーラム.
- ⑦ 矢内原 臨、他. 上皮性卵巣癌における免疫関連遺伝子の発現解析. 第62回日本産科婦人科学会学術講演会. 2010年4月23日. 東京国際フォーラム.

[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]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高倉 聡 (TAKAKURA SATOSHI)
東京慈恵会医科大学・医学部・講師
研究者番号：60256401

(2) 研究分担者

岡本 愛光 (OKAMOTO AIKOU)
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20204026

山田 恭輔 (YAMADA KYOSUKE)
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30230452

落合 和徳 (OCHIAI KAZUNORI)
東京慈恵会医科大学・医学部・教授
研究者番号：20152514

矢内原 臨 (YANAIHARA NOZOMU)
東京慈恵会医科大学・医学部・講師
研究者番号：20349624

(3) 連携研究者