

機関番号：32713

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591965

研究課題名（和文）糖脂質とトランスポーターの発現を指標にした卵巣癌の抗癌剤治療の適正化

研究課題名（英文）Optimization of chemotherapy of ovarian cancer as an indicator of transporter expression and glycolipid

研究代表者

木口 一成（KIGUCHI KAZUSHIGE）

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：60101911

研究成果の概要（和文）：抗癌剤耐性に関与する新たな仕組みとして、糖脂質セラミド鎖と糖鎖が細胞膜上のラフト構造にあってトランスポーター活性を調節している可能性についても検討を行うため、抗癌剤感受性/耐性細胞間の糖脂質組織のみならずセラミド鎖の分子種の変化についても比較検討を行った。その結果、糖脂質セラミドと糖鎖は、細胞上のラフト構造にあってトランスポーター活性を調節している可能性が示唆され、糖脂質とABCトランスポーターの発現を指標にした適正な抗癌剤の使用が可能になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：To further characterize the molecular basis on anticancer drug-resistance of human ovarian carcinoma, we compared serous ovarian carcinoma derived 2008 cells with the taxol-resistant Px2 and cisplatin-resistant C13 cells. Although the amounts of major lipids, i. e. cholesterol, ceramides and phospholipids, in the resistant cells were same with those in the sensitive cells, Gb₃Cer was characteristically increased in the resistant cells, irrespective of whether the resistance was to taxol or cisplatin. Also, gangliosides GM1 and GD1a were increased in the taxol-resistant cells, but were absent in the cisplatin-resistant cells. Expression of MDR1 gene was significantly enhanced in the taxol-resistant cells. Thus, coexpression of transporter proteins and glycolipids was suggested to enhance the activity of transporter proteins by strengthening the molecular packing through the hydrogen bonds between glycolipids and proteins in the raft structures of biomembrane.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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

抗癌剤治療は癌において非常に重要な治療法であり、広範囲に用いられている。しかし、抗癌剤の効果は最終的には3割の患者に

見られるに過ぎず、大部分の患者は抗癌剤耐性に苦しむなど有効性は限られている。すなわち、反復投与によって、投与した抗癌剤のみならず構造が類似の他の抗癌剤に対しても多剤耐性になることが知られている。

抗癌剤耐性に関与するメカニズムの第1として ABC トランスポーターである MDR-1 や MRP-2 による薬剤の排出がある。第2のメカニズムは抗癌剤によるセラミド依存的アポトーシスに関わるものであり、耐性細胞はセラミドを糖脂質に変換することでアポトーシスを免れようとする。このような既成事実に加え、近年 ABC トランスポーターと糖脂質は細胞膜上のラフト構造において有機的に関連し合っている事が推定されている。

2. 研究の目的

そこで本研究では、糖脂質と ABC トランスポーターの発現を指標にし、より適正な抗癌剤の使用に向けた臨床研究も合わせて実施することにより適正な抗癌剤を選択し、最終的には難治性の卵巣癌の予後の改善を図ることを目標とする

3. 研究の方法

シスプラチン及びタキソール感受性/耐性卵巣癌細胞株を用いて以下の方法で解析した。

(1) シスプラチン・タキソールに感受性/耐性の細胞間の糖脂質組織/ABC トランスポーターの発現の差を比較する

(2) スフィンゴミエリナーゼ (セラミド産生酵素) 抑制剤やセラミターゼ (セラミドをスフィンゴシンへ代謝する酵素) 阻害剤を抗癌剤投与前に加え、アポトーシスの変化をみる。

4. 研究成果

抗癌剤耐性に関与する仕組みとして、第1にトランスポーター型 ABC 蛋白質による抗癌剤の細胞外への排出が考えられる。

我々は本研究において卵巣癌細胞株を用いた手法により、感受性細胞/耐性細胞間の ABC トランスポーター発現の差を解析した結果、タキソール耐性細胞では MDR-1 が、一方シスプラチン耐性細胞では MRP-2 が特異的に発現していた。

第2の仕組みは、抗がん剤によるセラミド依存的アポトーシスに関わるものであり、すなわち耐性細胞においては抗癌剤の刺激により、本来生ずるセラミド生成/アポトーシスへの誘導が起らず、セラミドを糖脂質に変換してしまう事がその本態とされる。この事実は既にダウノルビシンを用いた白血病細胞では実証されているが、今回の我々の卵巣癌における検討では、感受性/耐性細胞間にセラミド量の有意な差はみられなかった。

さらに我々の研究の主目的である抗癌剤

耐性に関与する第3の仕組みとして、糖脂質セラミド鎖と糖鎖が細胞膜上のラフト構造にあってトランスポーター活性を調節している可能性について検討を行った。具体的には抗癌剤感受性/耐性細胞間の糖脂質組織のみならずセラミド鎖の分子種の変化についても比較検討を行い、以下の結論を得た。

(1) 中性スフィンゴ糖脂質の Globe 系列に属する Gb₃Cer は、CDDP/Taxol 耐性の違いなく耐性細胞で増量していた。

(2) 糖鎖にシアル酸が付加したガングリオシドについては GM₅、GM₁ が Taxol 耐性細胞において感受性細胞に比し増量していた。

(3) セラミド鎖の分子種については、CDDP/Taxol 耐性の違いなく α -Hydroxyfatty acid が主成分であった。

(4) 抗癌剤投与によるスフィンゴミエリナーゼ (SMase) の活性化によるセラミド産生、それに続発するアポトーシスを回避する糖脂質の産生メカニズムが観察された。以上の結果、糖脂質セラミドと糖鎖は、細胞上のラフト構造にあってトランスポーター活性を調節している可能性が示唆され、糖脂質と ABC トランスポーターの発現を指標にした適正な抗癌剤の使用が可能になることが期待される。

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 14 件)

- 1: 大原樹、小林陽一、鈴木直、木口一成、新井正秀、角田新平、上坊敏子、平澤猛、村松俊成、三上幹夫、子宮内膜間質肉腫 18 例の臨床病理学的検討、日本婦人科腫瘍学会雑誌、査読有、28 巻、2010、144-149
- 2: 鈴木直、杉下陽堂、小林陽一、木口一成、石塚文平、婦人科がん化学療法の有害事象 一卵巣機能不全、産科と婦人科、査読有、77 巻、2010、586-590
- 3: 矢作奈美子、小林陽一、細沼信示、大原樹、近藤春裕、鈴木直、木口一成、石塚文平、Performance status 不良の進行婦人科癌に対する weekly paclitaxel + carboplatin 療法の有用性、日本婦人科腫瘍学会雑誌、査読有、29 巻、2010、112-117
- 4: 矢作奈美子、小林陽一、大原樹、近藤春裕、鈴木直、木口一成、石塚文平、再発卵巣癌に対する Irinotecan + Cisplatin 療法の有用性、癌と科学療法、査読有、36 巻、2009、2583-2586
- 5: 矢作奈美子、栗林靖、和田康菜、大熊克彰、水原浩、相田芳夫、鈴木直、小林陽一、木口一成、石塚文平、境界悪性傍卵巣腫瘍の 1 例、日本産科婦人科学会関東

- 連合地方部会誌、査読有、46 巻、2009、373-377
- 6 : Yoshioka Norihito, Suzuki Nao, Uekawa Atsushi, Kiguchi Kazushige, Ishizuka Bunpei, POU6F1 is the transcription factor that might be involved in cell proliferation of clear cell adenocarcinoma of the ovary, HUMAN CELL, 査読有、4 巻、2009、94-100
 - 7 : 木口一成、卵巣がん診療の最前線、聖マリアンナ医科大学雑誌、査読有、37 巻、2009、287-298
 - 8 : Watatu Tarumi, Nao Suzuki, Noriyuki Takahashi, Yoichi Kobayashi, Kazushige Kiguchi, Kahei Sato, Bunpei Ishizuka, Ovarian toxicity of paclitaxel and effect on fertility in the rat, J. Obstet. Gynaecol. Res, 査読有、35 巻、2009、1321-1325
 - 9 : Miyazawa Masaki, Yasuda Masanori, Fujita Mariko, Kajiura Hiroshi, Hirabayashi Kenichi, Takekoshi Susumu, Hirasawa Takeshi, Murakami Masaru, Ogane Naoki, Kiguchi Kazushige, Ishiwata Isamu, Mikami Mikio, Osamura R Yoshiyuki, Therapeutic strategy targeting the mTOR-HIF-1 α -VEGF pathway in ovarian clear cell adenocarcinoma, Pathology International, 査読有、59 巻、2009、19-27
 - 10 : 今井 愛、二井美津穂、上坊敏子、海野信也、平澤 猛、村松俊成、三上幹男、鈴木 直、小林陽一、木口一成、婦人科にて初期治療を施行した GIST 症例の臨床病理学的検討、日本婦人科腫瘍学会誌、査読有、27 巻、2009、63-68
 - 11 : 小林陽一、大原 樹、鈴木 直、木口一成、石塚文平、TGP (Thermoreversible Gelation Polymer) を用いた感受性試験に基づく婦人科癌化学療法の個別化の試み、日本婦人科腫瘍学会雑誌、査読有、27 巻、2009、37-41
 - 12 : 鈴木直、大原樹、小林陽一、木口一成、**【卵巣癌治療の最前線 6】**卵巣癌の維持化学療法、臨床婦人科産科、査読有、62 巻、2008、1321-1325
 - 13 : 岩森正男、岩森由里子、斎藤真木子、田中京子、石渡 勇、木口一成、抗癌剤耐性細胞とペルオキシゾーム欠損細胞における糖脂質合成の促進、JCBL (第 50 回日本脂質生化学会講演要旨集)、査読有、50 巻、2008、131-134
 - 14 : 古屋直樹、小林陽一、桑原真理子、吉岡伸人、渡辺弓花、吉岡範人、渡辺敦子、大原 樹、和田康菜、井上 憲、奥田順子、鈴木 直、木口一成、石塚文平、VP-16

内服にて CR を得た再発卵巣癌の一例、第 378 回日本産科婦人科学会神奈川地方部会誌、査読有、44 巻、2008、25-27

[学会発表] (計 39 件)

- 1 : 中川侑子、婦人科癌における動注化学療法の役割 進行腫瘍に対する動注化学療法にて腫瘍の局所制御が可能であった 1 例、第 120 回日本産科婦人科学会関東連合地方部会総会・学術集会、2010 年 11 月 28 日、茨城
- 2 : 杉山太朗、レクチンアレイを用いた子宮内膜・子宮体癌に発現する糖蛋白質糖鎖の検索、第 49 回日本臨床細胞学会秋季大会、2010 年 11 月 21 日、兵庫
- 3 : 栗原猛、BEP 療法に抵抗性を示した胚細胞性腫瘍の一症例、第 392 回日本産科婦人科学会神奈川地方部会、2010 年 11 月 14 日、神奈川
- 4 : 田中京子、粘液性および漿液性卵巣癌組織における硫酸化および α 2,6 シリアル酸化糖脂質の発現、第 69 回日本癌学会学術総会、2010 年 9 月 22 日、大阪
- 5 : 西島義博、レクチンアレイを用いた子宮内膜・子宮体癌 (高分化型・低分化型) に発現する糖蛋白質糖鎖の検索、第 69 回日本癌学会学術総会、2010 年 9 月 22 日、大阪
- 6 : 矢作奈美子、卵巣境界悪性明細胞腫瘍の 1 例、第 48 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会、2010 年 7 月 9 日、茨城
- 7 : 杉山太朗、レクチンアレイを用いた着床期子宮内膜に発現する糖蛋白質糖鎖の検索、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
- 8 : 西島義博、レクチンアレイを用いた子宮内膜・子宮体癌 (高分化型・低分化型) に発現する糖蛋白質糖鎖の検索、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
- 9 : 間瀬有里、ヒト卵巣顆粒膜細胞に発現する miRNA の特徴：～次世代シーケンサーを用いた大規模プロファイリング解析～、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
- 10 : 滝澤謙治、卵巣癌を中心とする再発婦人科癌の IVR 手技、第 47 回日本婦人科腫瘍学会、2009 年 11 月 21-22 日、東京
- 11 : 小林陽一、Neoadjuvant chemotherapy として動注療法を併用した CCRT、第 47 回日本婦人科腫瘍学会、2009 年 11 月 21

- 22 日、東京
- 12 : 大熊克彰、不正出血を主訴に来院した 90 歳の卵巣顆粒膜細胞の一例、第 48 回日本臨床細胞学会秋季大会、2009 年 10 月 30—31 日、福岡
- 13 : 鈴木直、婦人科がん患者における消化管閉塞に対するオクトレオチドの使用開始時期に関する検討、第 47 回日本癌治療学会学術集会、2009 年 10 月 22—24 日、神奈川
- 14 : 田中京子、Characteristic compositions of lipids and glycolipids in the tissues of serous and mucinous cystadenocarcinomas of ovary、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 1—3 日、神奈川
- 15 : 渡邊弓花、卵巣 yolk sac tumor の 1 例、第 28 回日本臨床細胞学会神奈川県地方部会学術集会、2009 年 9 月 19 日、神奈川
- 16 : 名古崇史、診断、治療に苦慮した卵巣腫瘍の 1 例、第 46 回日本婦人科腫瘍学会学術集会、2009 年 7 月 10—12 日、新潟
- 17 : 矢作奈美、PS 不良の進行婦人科癌に対する WeeklyTC 療法の有用性、第 46 回日本婦人科腫瘍学会学術集会、2009 年 7 月 10—12 日、新潟
- 18 : 吉岡伸人、当院における SSPC の臨床的検討、第 384 回日本産科婦人科学会神奈川地方部会、2008 年 12 月 7 日、神奈川
- 19 : 矢作奈美子、再発卵巣癌に対する CPT-11+CDDP 療法の有用性、第 46 回日本癌治療学会、2008 年 10 月 31—11 月 1 日、名古屋
- 20 : 平澤猛、卵巣明細胞腺癌における P13K-Akt-m-TOR-HIF-1 経路の活性化とエベロリムスの臨床応用の可能性について、第 46 回日本癌治療学会、2008 年 10 月 31—11 月 1 日、名古屋
- 21 : 大原樹、表層上皮性卵巣癌、卵管癌、腹膜癌初回治療症例に対する weekly Docetaxel + Carboplatin 併用化学療法の検討 (臨床第 II 相試験 : KanagawaGOG-OC01)、中間解析結果、第 46 回日本癌治療学会、2008 年 10 月 31—11 月 1 日、名古屋
- 22 : Masao Iwamori、Expression of transporter and glycosyltransferase genes in ovarian carcinomatous cells and anticancer drug-resistance、第 67 回日本癌学会、2008 年 10 月 28—30 日、名古屋
- 23 : Kazushige Kiguchi、Cancer stem cells of ovarian cancer and the resistance to anticancer drugs、第 67 回日本癌学会、2008 年 10 月 28—30 日、名古屋
- 24 : N. Yoshioka、THE ELUCIDATION OF THE ROLE OF CAVEOLIN-1 IN THE INVASIVE POTENTIAL OF THE OVARIAN CLEAR CELL ADENOCARCINOMA、12th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society、2008 年 10 月 25—28 日、BANGKOK, THAILAND
- 25 : Y. Kobayashi、CLINICAL STUDY OF IRINOTECAN AND CISPLATIN (CPT-P) FOR RECURRENT EPITHELIAL OVARIAN CANCER PATIENTS、12th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society、2008 年 10 月 25—28 日、BANGKOK, THAILAND
- 26 : Uekawa A、The elucidation of the role of Caveolin-1 in the invasive potential of the ovarian clear cell adenocarcinoma、36th Congress of the International Society of Oncology & BioMarkers (ISOBM)、2008 年 10 月 5—9 日、東京
- 27 : 吉岡範人、卵巣癌の浸潤能におけるマイクロドメインの役割の解明、第 44 回日本婦人科腫瘍学会、2008 年 7 月 17—19 日、名古屋
- 28 : 宮澤昌樹、卵巣明細胞腺癌における mTOR-HIF-1 経路を標的とした新たな卵巣癌治療の可能性、第 44 回日本婦人科腫瘍学会、2008 年 7 月 17—19 日、名古屋
- 29 : 小林陽一、TGP (Thermoreversible Gelation Polymer) を用いた感受性試験に基づく婦人科癌化学療法の個別化の試み、第 44 回日本婦人科腫瘍学会、2008 年 7 月 17—19 日、名古屋
- 30 : 横道憲幸、卵巣原発移行上皮癌の一例、第 10 回神奈川婦人科腫瘍研究会、2008 年 6 月 28 日、横浜
- 31 : 名古崇史、当院における卵巣癌Ⅲ、Ⅳ期の長期生存例、第 25 回神奈川 3 大学オンコロジストの会、2008 年 6 月 20 日、神奈川
- 32 : 吉岡範人、卵巣癌における浸潤能に関わるラフトの役割、第 49 回日本臨床細胞学会 (春期大会)、2008 年 6 月 6—8 日、東京
- 33 : 桑原真理子、子宮内膜細胞診を契機に発見された卵管明細胞腺癌の 1 例、第 49 回日本臨床細胞学会 (春期大会)、2008 年 6 月 6—8 日、東京
- 34 : 岩森正男、抗癌剤耐性細胞とペルオキシゾーム欠損細胞における糖脂質合成の促進、第 50 回日本脂質生化学会、2008 年 6 月 5—6 日、徳島
- 35 : Masao Iwamori、Enhanced synthesis of glycolipids containing 2-hydroxy

fatty acids in human ovarian carcinoma-derived cells with anticancer-drug resistance、国際糖転移酵素学会 Glyco T 2008、2008 年 5 月 17-20 日、Atlanta, USA 米国ジョージア州エモリー大学

- 36: 樽見航、ラットにおけるパクリタキセルによる卵巣毒性に関する基礎的研究、第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会、2008 年 4 月 12-15 日、横浜
- 37: 吉岡範人、卵巣明細胞腺癌の浸潤能におけるカベオリン-1 の役割の解明、第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会、2008 年 4 月 12-15 日、横浜
- 38: 平澤猛、エベロリムスによる卵巣明細胞腺癌に対する新たな治療戦略、第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会、2008 年 4 月 12-15 日、横浜
- 39: 鈴木直、カニクイザルを用いた卵巣組織自家移植に関する基礎的研究-若年女性がん患者の QOL 向上を志向して、第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会、2008 年 4 月 12-15 日、横浜

[図書] (計 1 件)

1: 鈴木 直, 他、ヴァン メディカル、卵巣癌診療ハンドブック、2009、176-183

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木口 一成 (KIGUCHI KAZUSHIGE)
聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
研究者番号：60101911

(2) 研究分担者

大原 樹 (OHARA TATSURU)
聖マリアンナ医科大学・医学部・助教
研究者番号：30445879

(3) 連携研究者

なし