

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592446

研究課題名(和文)mTORC2をターゲットとした卵巣癌の分子標的治療・予防の可能性の検討

研究課題名(英文)Potential role of mTORC2 as a therapeutic target in epithelial ovarian cancer

## 研究代表者

馬淵 誠士(Mabuchi, Seiji)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00452441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：mTOR Complex2(以下 )に着目し卵巣明細胞腺癌の進展における の役割を検討した結果は卵巣明細胞腺癌において高頻度に発現し明細胞腺癌の増殖やmTORC1阻害薬耐性化を促進する事、 を阻害すると明細胞腺癌の進展が抑制されmTORC1阻害薬耐性化が回避できる事が示された。又既存の抗癌剤に対して耐性を示す明細胞腺癌が新規抗癌剤であるTrabectedinに強い感受性を示し、TrabectedinをIrinotecanと併用すると非常に強い相乗効果が発揮される事、Trabectedin+Irinotecan+mTOR阻害薬の併用が明細胞腺癌に対する有望な治療選択肢である事を見出した。

研究成果の概要(英文)：In the current study, we found that mTORC2 is frequently activated in ovarian cancer, especially in clear cell carcinoma of the ovary (CCC). mTORC2 stimulated cell proliferation and mediate the acquired resistance to mTORC1 inhibitor (Mol Cancer Ther. 2013;12:1367-77.). We also identified trabectedin shows significant antitumor activity toward chemosensitive and chemoresistant CCC cells. The inhibition of mTORC1 significantly enhanced the therapeutic efficacy of trabectedin and prevented CCC cells from acquiring resistance to trabectedin. Finally, we found that treatment with trabectedin plus irinotecan in combination with mTOR inhibitors displays the strong anti-tumor effect against ovarian CCC (Clin Cancer Res 2011;17:4462-73., Int J Gynecol Cancer 2014, in press). Our studies provide the rationale for future clinical trials of mTOR targeting therapies in combination with trabectedin in patients with ovarian CCC.

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：mTORC2 mTORC1 mTORC1阻害薬 耐性化 Trabectedin

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 卵巣明細胞腺癌は、既存の抗癌剤に耐性を示し、有効な化学療法レジメンが存在しない。このため、抗癌剤に比較的高い感受性を示す漿液性腺癌や類内膜腺癌と比べて、明細胞腺癌は特に予後が不良である。明細胞腺癌の予後改善のためには、有望な治療標的分子の同定と分子標的治療の開発、有効な抗癌剤の開発、抗癌剤耐性のメカニズムの解明、の三つが同時に必要である。

(2) 我々は以前から、血管新生促進作用と細胞増殖促進作用を併せ持つ細胞内シグナル mTORC1 に着目し、mTORC1 が卵巣癌の中でも明細胞腺癌で特に活性化し、有望な治療標的であることを見出した。しかし mTORC1 阻害薬の効果は、細胞増殖抑制・血管新生阻害を介した Cytostatic なものであり、長期にわたり治療を継続すると効果は弱まり、腫瘍は再増大することが明らかとなった(耐性化)。mTORC1 阻害剤を卵巣癌に臨床応用し予後の改善を目指すためには、耐性化をいかにして克服するかということを経験においた研究を行う必要がある。

## 2. 研究の目的

(1) mTOR Complex 2(mTORC2)に着目し、mTORC2 が卵巣癌の増殖・進展に重要な役割を果たしているとの仮説をたて、卵巣癌における mTORC2 の活性化、卵巣癌における mTORC2 の機能および治療標的としての可能性、mTORC2 を抑制すると mTORC1 阻害剤耐性を回避し、より有効な mTOR 阻害治療が確立できるか?を検討する。

(2) 卵巣明細胞腺癌に対して有効な化学療法レジメンが存在しない。そこで我々は、明細胞腺癌に対する有効な化学療法を開発することを目的とし、明細胞腺癌に対する有効な抗癌剤を見出し、この抗癌剤を基軸とした 2 剤併用化学療法を見出すべく In vitro および In vivo の研究

を行うこととした。本研究では、卵巣明細胞腺癌に対する有効な抗癌剤の候補として、DNA 結合型新規抗癌剤である Trabectedin に着目する。

## 3. 研究の方法

(1) 卵巣癌における mTORC2 の活性化の検討:日本人卵巣癌検体(明細胞腺癌 50 検体 + 漿液性腺癌 50 検体)からなる Tissue microarray(TMA)を作成し、免疫組織染色法により mTORC2 の活性(Rictor および Phospho-AKT の発現)を検討する。

(2) 卵巣癌の進展における mTORC2 の役割の検討:4 種類の卵巣明細胞腺癌細胞株を用い、卵巣癌の細胞増殖・血管新生に mTORC2 がどのように関わるか、その機能と mTORC2 を標的とした卵巣癌治療の有用性を検討。mTORC2 の機能解析には mTORC2 に対する siRNA および阻害薬である AZD8055 を用いる。

(3) mTORC2 の mTORC1 阻害剤耐性化への関与の検討:まず明細胞腺癌細胞株を mTORC1 阻害剤に持続暴露させ、耐性株を作成。これを用い、mTORC2 を抑制することにより mTORC1 阻害剤耐性を回避できるかを検討する。mTORC2 の抑制は阻害剤および siRNA を用いて行った。

(4) Trabectedin の抗腫瘍効果の評価:単剤での抗腫瘍効果は MTS assay およびヌードマウスの皮下移植モデルを用いて検討。Trabectedin と他の抗癌剤との併用効果については、各種の組み合わせの抗腫瘍効果を MTS assay にて検討し、その結果をもとに Isobologram を作成し、Combination index を算出して検討。

## 4. 研究成果

(1) 卵巣癌における mTORC2 の活性化(図 1)  
mTORC2 の発現(Rictor の発現)および活性化(Phospho-mTOR at Ser2481)を組織型別に比較したところ、mTORC2 は卵巣癌において高頻度に発現し、活性化頻度は明細胞腺癌において特に高いことが明らか

かとなった。

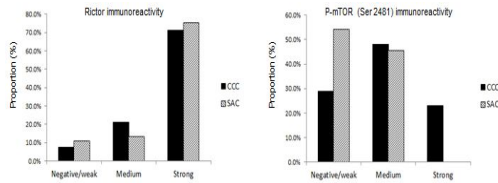


図 1. 卵巣癌における mTORC2 の活性化 (漿液性腺癌 vs 明細胞腺癌)

(2) 卵巣癌の増殖・進展における mTORC2 の役割 (図 2)

mTORC1 阻害薬である RAD001 と、mTORC1/2 同時阻害薬である AZD8055 の抗腫瘍効果を比較することで mTORC2 の役割を検討。その結果、mTORC2 が明細胞腺癌の増殖を促進することが示された。

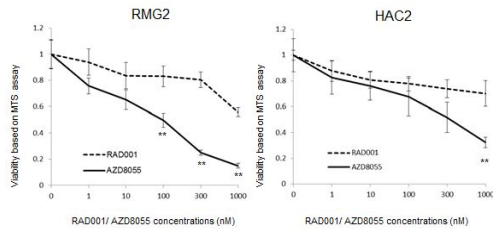


図 2. mTORC2 阻害による細胞増殖の抑制

(3) 卵巣癌の mTORC1 阻害薬耐性化における mTORC2 の役割 (図 3,4)

mTORC1 を抑制すると Feedback により mTORC2 が活性化し、活性化した mTORC2 は AKT の活性化を介して mTORC1 阻害薬耐性化を促進した (図 3)。また Rictor に対する shRNA により mTORC2 を阻害すると mTORC1 阻害薬耐性化が回避できることが示された (図 4)。

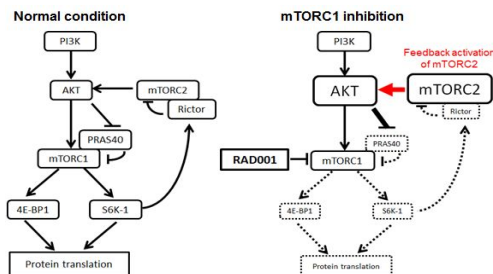


図 3. Negative feedback による mTORC2 の活性化

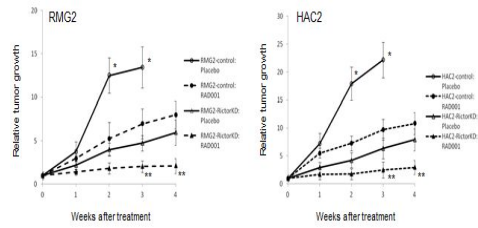


図 4. mTORC2 阻害による mTORC1 阻害薬耐性化の回避

(4) 明細胞腺癌に対する Trabectedin の抗腫瘍効果 (図 5)

Trabectedin の抗腫瘍効果を、他の薬剤 (明細胞腺癌に対して臨床的に使用されている Cisplatin, Paclitaxel, SN-38) と比較したところ、Trabectedin の抗腫瘍効果は他の薬剤と比べて有意に高く、卵巣明細胞腺癌に対する Key drug となることを見出した。

In vitro activity of existing anti-cancer agents

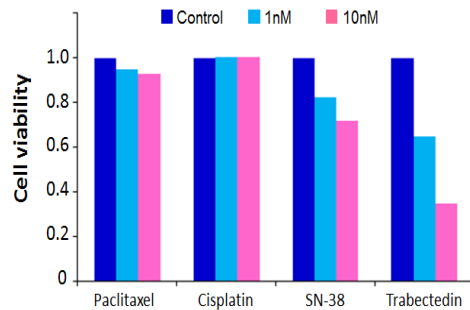


図 5. Trabectedin と他の抗癌剤の抗腫瘍効果の比較

(5) Trabectedin+Irinotecan と mTORC1 阻害薬の併用効果 (図 6,7)

In vitro において、明細胞腺癌細胞株に Trabectedin を SN38 (Irinotecan の active metabolite) と併用した場合に非常に強い相乗効果が観察された (図 6)。

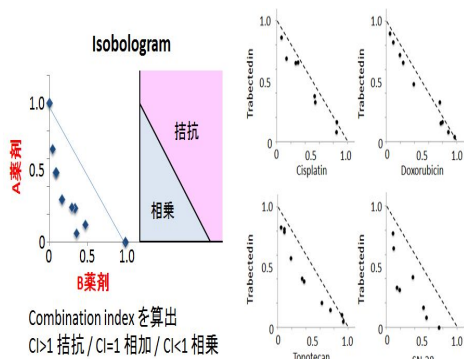


図 6. Trabectedin と他の抗癌剤との併用効果の検討

また、mTORC1 阻害薬は Trabectedin + Irinotecan の効果をさらに増強させることが示され、Trabectedin + Irinotecan + mTORC1 阻害薬が明細胞腺癌に対する最も有望な治療レジメンと考えられた (図 7)。

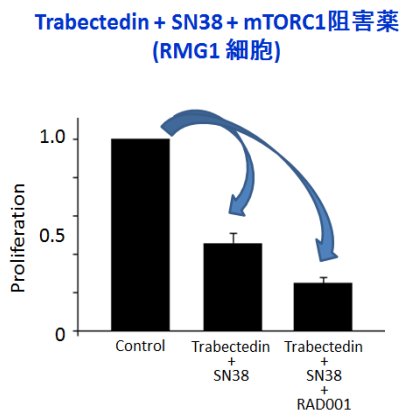


図 7. Trabectedin+Irinotecan+mTORC1 阻害薬の効果

## 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 3 件)

著者：Hisamatsu T, Mabuchi S, Matsumoto Y, Kawano M, Sasano T, Takahashi R, Sawada K, Ito K, Kurachi H, Schilder RJ, Testa JR, Kimura T.

標 題：Potential Role of mTORC2 as a Therapeutic Target in Clear Cell Carcinoma of the Ovary.

雑誌：Mol Cancer Ther. 2013;12:1367-77.

著者：Mabuchi S, Hisamatsu T, Kimura T.

標 題：Targeting mTOR signaling pathway in ovarian cancer.

雑誌：Curr Med Chem. 2011;18:2960-8.

著者：Mabuchi S, Hisamatsu T, Kawase C, Hayashi M, Sawada K, Mimura K, Takahashi K, Takahashi T, Kurachi H, Kimura T.

標 題：The activity of trabectedin as a single agent or in combination with everolimus for clear cell carcinoma of the ovary.

雑誌：Clin Cancer Res. 2011;17:4462-73.

〔学会発表〕(計 1 件)

発表者：Seiji Mabuchi

標 題：What 's clear and not clear about clear cell cancer

学 会：14<sup>th</sup> Biennial meeting of International Gynecologic Cancer Society

年月日：2012/10/13-16

場所：Vancouver Canada

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 馬淵 誠士  
(Mabuchi Seiji)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号： 00452441

(2)研究分担者 澤田 健二郎  
(Sawada Kenjiro)  
大阪大学・医学系研究科・講師  
研究者番号： 00452392

研究分担者 磯部 晶  
(Isobe Aki)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号： 60397619

研究分担者 橋本 香映  
(Hashimoto Kae)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号： 90612078

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：