

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659777

研究課題名（和文） 網羅的遺伝子発現解析に基づく卵巢癌幹細胞に特異的な免疫療法の開発

研究課題名（英文） Develop of ovarian cancer stem cell specific immunotherapy based on DNA microarray analysis

研究代表者 小西郁生 (KONISHI IKUO)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：90192062

研究成果の概要（和文）：

ヒト卵巢癌細胞株を用いて、Hoechst33342 による SP (Side population) 分画の分離を行い、複数個の細胞株で SP 分画を認める細胞株を同定した。さらにこれらの細胞株の SP 分画と MP 分画の細胞群の比較遺伝子発現マイクロアレイ解析を行い、発現差を認めた遺伝子群から免疫関連遺伝子群を抽出した。次に、卵巢癌臨床検体を用いた発現マイクロアレイを用いて、上記の遺伝子群への関わりの強さについて数値化した結果、再発や予後不良となる傾向を認めた。以上から、癌幹細胞は免疫を抑制しながら増殖している可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

From several human ovarian cancer cell lines Hoechst33342 isolated Side population (SP) and major population (MP) by FACS sorting system. DNA microarray analysis showed some specific genes (stemness gene signature) between SP cells and MP cells, and we chose immune-related genes from stemness gene signature (Stem-Immuno-Gene Signature: SIGS). Next we analyzed and scored human ovarian cancer tissues by using SIGS with ssGSEA method. As the cases with higher SIGS score were significantly worse prognosis, The analyses shown here may lead to a precise understanding of the local immune status and stemness and provide a tool for the application of immune therapies to treat ovarian cancer patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

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

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

近年、がんの増殖は、癌幹細胞と言われるがん全体のごく一部を占める自己複製能、多分化能に依存しており、がんを完治させるためには、癌幹細胞を標的とした治療の重要性が示されている。また一方で、がんはその局所でさまざまな免疫抑制因子を発現したり分泌することにより、宿主免疫の攻撃から逃避するシステム「免疫逃避機構」を獲得していることが報告されている。

しかしながらこれらの2事象を包括的に関連付けて解析をする研究は少ない。

2. 研究の目的

卵巣癌において、癌幹細胞を同定するとともに、本細胞群が、卵巣癌局所において、宿主免疫にどのように関与するのかという基礎免疫学的検討を行い、さらにこれに基づいた卵巣癌幹細胞への免疫治療を開発することを目的とする

3. 研究の方法

6種のヒト卵巣癌細胞株を用いて、それぞれHoechst33342によるSP (Side population) 分画およびMP (major population) をそれぞれ同定した。またFACSariaセルソーターを用いて選択的にSP, MP分離し各細胞群からRNAを抽出し、遺伝子発現マイクロアレイ解析を行い、パスウェイ解析から、既知の癌幹細胞マーカー候補遺伝子が有意にSP分画に集積していることを確認した。さらにこれらのSPとMPで発現差を認めた遺伝子群について、パスウェイ解析にて、免疫に関わる遺伝子群を抽出し、予後との関係を検討した。

4. 研究成果

ヒト卵巣癌細胞株を用いて、Hoechst33342によるSP (Side population) 分画の分離を行い、複数個の細胞株でSP分画を認める細胞株を同定した。さらにこれらの細胞株のSP分画とMP分画の細胞群の比較遺伝子発現マイクロアレイ解析を行い、発現差を認めた遺伝子群から免疫関連遺伝子群を抽出した(Stem-Immuno-Gene Signature: SIGS)。次に、卵巣癌臨床検体(腫瘍組織)を用いた発現マイクロアレイデータを用いて、上記のSIGSへの関わりの強さについてそれぞれの検体(症例)について、数値化した結果、再発や予後不良となる傾向を認めた。さらにこの検討で得られた複数の遺伝子についてshRNAによる遺伝子発現抑制したマウス卵巣癌細胞株を用いたマウス腹膜播種モデル

において、コントロール sh 株を投与した群に比して有意に生存期間が延長した。以上から、癌幹細胞は免疫を抑制しながら増殖している可能性が示された。

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)

1) PD-L1 on Tumor Cells Is Induced in Ascites and Promotes Peritoneal Dissemination of Ovarian Cancer through CTL Dysfunction.

Abiko K, Mandai M, Hamanishi J, Yoshioka Y, Matsumura N, Baba T, Yamaguchi K, Murakami R, Yamamoto A, Kharma B, Kosaka K, Konishi I.

Clin Cancer Res. 19 2013 1363-1374
10.1158/1078-0432.CCR-12-2199

PMID: 23340297 査読有

2) Immunological aspect of metastasis of ovarian Cancer

Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, Yoshioka Y, Konishi I.

Nihon Rinsho 4 2012 507-511

PMID: 23156299 査読有

3) 【婦人科悪性腫瘍の治療開発とそのシーズ】 卵巣癌の播種・進展と免疫環境との関連分子を標的とした治療法の開発

万代昌紀, 濱西潤三, 安彦郁, 松村謙臣, 馬場

長, 小阪謙三, 吉岡弓子, 小西郁生

産婦人科の実際 61 2012 201-205 査読有

[学会発表] (計12件)

1) 「卵巣癌細胞は腹水中でPD-L1を発現することにより免疫から逃避する」安彦郁、万代昌紀、濱西潤三、山口建、吉岡弓子、馬場長、松村謙臣、小阪謙三、小西郁生

2) 「再発卵巣癌において長期生存をもたらす因子の解析」大仲恵、吉岡弓子、松村謙臣、馬場長、鈴木彩子、小阪謙三、万代昌紀、小西郁生

- 3) 「卵巣明細胞腺癌に特異的に発現する HNF1β は、ROS 耐性に関与している」 天野泰彰、万代昌紀、山口建、小阪謙三、松村謙臣、馬場長、濱西潤三、吉岡弓子、安彦郁、Hisham Ahed el-sayed abou-taleb、岡本尊子、小西郁生、
- 4) 「卵巣明細胞腺癌において、HNF1 転写活性による生物学的特徴と、エストロゲン非依存性の腫瘍形成は、協調したメチル化により制御される」 山口建、万代昌紀、松村謙臣、天野泰彰、Hisham Ahed el-sayed abou-taleb、馬場長、濱西潤三、吉岡弓子、鈴木彩子、小阪謙三、小西郁生
- 5) 「The BMP signaling pathway leads to enhanced proliferation in serous ovarian cancer --A potential therapeutic target.」 Peng Jin、吉岡弓子、万代昌紀、松村謙臣、山口建、馬場長、安彦郁、Budiman Kharma、濱西潤三、小阪謙三、小西郁生 以上、1)-5); 第 64 回日本産科婦人科学会学術集会 2012 年 4 月 13~15 日 神戸
- 6) 「卵巣癌細胞が腹水中で PD-L1 を発現し CTL 機能を障害することにより腹膜播種が促進される」 安彦郁、万代昌紀、濱西潤三、山口建、吉岡弓子、馬場長、松村謙臣、村上隆介、奈倉道和、天野泰彰、小阪謙三、小西郁生、第 17 回生殖医学フォーラム 2012 年 5 月 25 日~26 日 香川
- 7) 「卵巣癌細胞は腹水中で PD-L1 を発現することにより免疫から逃避する」 安彦郁、万代昌紀、濱西潤三、山口建、吉岡弓子、馬場長、松村謙臣、村上隆介、奈倉道和、天野泰彰、小阪謙三、小西郁生 第 52 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 2012 年 7 月 19 日~21 日 東京グランドプリンスホテル新高輪
- 8) 「腫瘍局所の免疫状態の解析による、がん

免疫逃避を標的とした卵巣癌の新規治療戦略」濱西潤三、万代昌紀、安彦郁、松村謙臣、馬場長、吉岡弓子、山口建、奈倉道和、小西郁生

9) 「Tumor-associated Lymphocytes Attenuate Tumor Immunity to Promote Progression of Serous Endometrial Cancer via STAT1 pathway」 Budiman Kharma, Tsukasa Baba, Hyun Sook Kang, Masaki Mandai, Junzo Hamanishi, Yumiko Yoshioka, Noriomi Matsumura, Ken Yamaguchi and Ikuo Konishi、

10) 「Role of ARID1A to the clinic-pathological characteristics of clear cell carcinoma of the ovary」 Hisham Abou-Taleb, Ken Yamaguchi, Masaki Mandai, Yasuaki Amano, Kenzo Kosaka, Noriomi Matsumura, Tsukasa Baba, Yumiko Yoshioka, Junzo Hamanishi and Ikuo Konishi

以上、8)-10); 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 19 日~21 日 札幌ロイトン札幌・さっぽろ芸文館・札幌市教育文化会館

11) 「当科における卵巣癌 IV 期症例の臨床的検討」 高倉賢人、濱西潤三、馬場長、松村謙臣、吉岡弓子、小阪謙三、万代昌紀、小西郁生

第 127 回近畿産科婦人科学会学術集会 2012 年 10 月 7 日 大阪 リーガロイヤルホテル大阪

12) 「PD-L1 expression on ovarian cancer cells promotes peritoneal dissemination」 安彦郁、万代昌紀、濱西潤三、吉岡弓子、Kharma Budiman、小西郁生 第 41 回日本免疫学会学術集会 2012 年 12 月 5 日~7 日 神戸

〔図書〕(計 5 件)

1) 小西郁生: 序文. 小西郁生 (編), 婦人科が 最新の研究動向, pp1-2, 日本臨床社, 東京, 2012

2)馬場 長、小川まどか、小西郁生: III. 子宮体がん 子宮体癌の検診・診断 腫瘍マーカー、バイオマーカー. 小西郁生 (編), 婦人科がん 最新の研究動向, pp372-376, 日本臨床社, 東京, 2012

3)松村謙臣、万代昌紀、馬場 長、小西郁生: IV. 卵巣がん 卵巣癌の転移機構 播種性転移の分子機構. 小西郁生 (編), 婦人科がん 最新の研究動向, pp498-501, 日本臨床社, 東京, 2012

4)万代昌紀、濱西潤三、安彦 郁、吉岡弓子、小西郁生: IV. 卵巣がん 卵巣癌の転移機構 免疫学的機序. 小西郁生 (編), 婦人科がん 最新の研究動向, pp507-511, 日本臨床社, 東京, 2012

5)万代昌紀、松村謙臣、馬場 長、鈴木彩子、小西郁生: IV. 卵巣がん 卵管癌の臨床診断と治療. 小西郁生 (編), 婦人科がん 最新の研究動向, pp664-669, 日本臨床社, 東京, 2012

[その他]

ホームページ:

京都大学病院産科婦人科

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~obgy/>

京都大学病院臨床研究センター

<http://crcmed.kuhp.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小西 郁生 (KONISHI IKUO)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：90192062

(2) 研究分担者

万代 昌紀 (MANDAI MASAKI)

近畿大学・産婦人科・教授

研究者番号：80283597

(3) 研究分担者

濱西 潤三 (HAMANISHI JYUNZO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：80378736