

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 18 日現在

機関番号：72609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25871147

研究課題名(和文) 卵巣明細胞腺癌における化学療法低感受性改善のための試み

研究課題名(英文) An attempt to improve low chemotherapy sensitivity of ovarian clear cell carcinoma

研究代表者

菊池 良子 (KIKUCHI, Ryoko)

公益財団法人佐々木研究所・附属研究所・研究員(移行)

研究者番号：80535063

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)：卵巣明細胞腺癌細胞株4種類をパクリタキセル感受性の低い細胞株2つと高い細胞株2つに分け、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法(2D-DIGE)を用いて、パクリタキセル感受性の低い細胞株で共通して、タンパク発現の高いスポット4つを同定し、このうち1つのスポットからラボネームprotein 1を同定した。

Protein 1は他の癌では抗がん剤耐性を引き起こしているとの報告があるが、卵巣明細胞腺癌ではその報告がなく、卵巣明細胞腺癌における新たなパクリタキセル感受性マーカーとなり、分子標的治療で標的とすることによって卵巣明細胞腺癌のパクリタキセル感受性を上昇させる分子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We used 4 ovarian clear cell carcinoma cell lines to identify 2 paclitaxel sensitive cell lines and 2 paclitaxel resistant cell lines. We used 2 Dimensional Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (2D-DIGE) to identify 4 proteins that have high protein expressions in 2 paclitaxel resistant cell lines in common and low protein expressions in 2 paclitaxel sensitive cell lines in common. One of the 4 proteins was protein 1 (labo name). Protein 1 was reported to induce drug resistance in other carcinoma, but was not reported to induce drug resistance in ovarian clear cell carcinoma. Protein 1 might be a new candidate of paclitaxel sensitive marker and protein 1-targeted therapy might enhance paclitaxel sensitivity of ovarian clear cell carcinoma.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣明細胞腺癌 パクリタキセル 分子標的治療 蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法

1. 研究開始当初の背景

卵巣明細胞腺癌は本邦において欧米と比較して頻度が明らかに高く、かつ徐々に増加しているといわれている。卵巣明細胞腺癌は進行癌や再発癌で卵巣癌の中で最も多い組織型である漿液性腺癌とくらべ非常に予後が悪い。この理由は上皮性卵巣癌の標準的な抗癌剤である白金製剤に耐性であるためであるといわれている。進行、再発卵巣明細胞腺癌では白金製剤よりパクリタキセルのほうが奏効率が高いとされているが、それでも卵巣明細胞腺癌では現在の上皮性卵巣癌の標準的な化学療法であるパクリタキセル・白金製剤併用療法の奏効率は低く、17%と報告されている。化学療法の感受性が予後に大きく影響する進行、再発卵巣癌において、非常に予後が悪い組織型である明細胞腺癌では、化学療法低感受性を改善することが治療における最重要点であると考えられる。

2. 研究の目的

卵巣明細胞腺癌における新規パクリタキセル耐性遺伝子の検索を行い、パクリタキセルとの同時投与でパクリタキセルの感受性をあげることのできる分子を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

パクリタキセル感受性の高い卵巣明細胞腺癌細胞株2株とパクリタキセル感受性の低い卵巣明細胞腺癌細胞株2株を同定した。これらの細胞株を用いて、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法(2D-DIGE)を用いて、両群で発現の異なるタンパク質スポットから、新規卵巣明細胞腺癌薬剤耐性遺伝子の探索を行った。

4. 研究成果

図1のように卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 1)は、卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 2)より、パクリタキセルの感受性が高く、

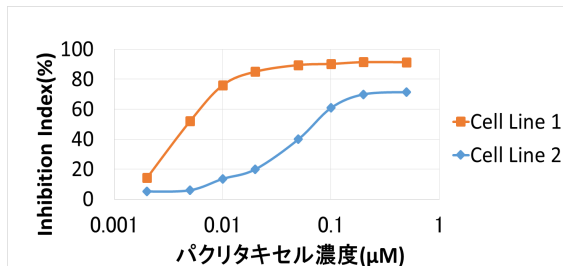


図1 Cell Line 1とCell Line 2のパクリタキセル感受性の比較

図2のように卵巣癌明細胞腺癌細胞株(Cell Line 1)は卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 3)よりパクリタキセル感受性が高いことがわかった。

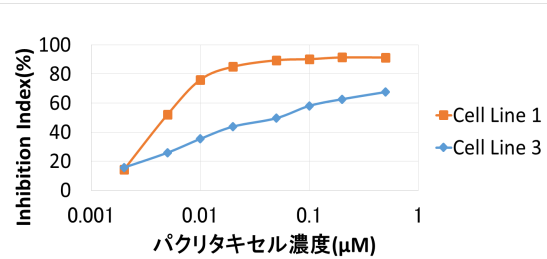


図2 Cell Line 1とCell Line 3のパクリタキセル感受性の比較

また、図3のように卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 4)は、卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 2)より、パクリタキセルの感受性が高く、

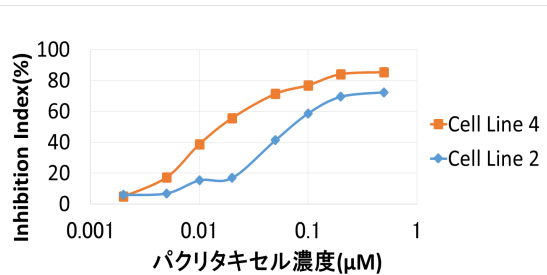


図3 Cell Line 4とCell Line 2のパクリタキセル感受性の比較

図4のように卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 4)は、卵巣明細胞腺癌細胞株(Cell Line 3)より、パクリタキセルの感受性が高いことがわかった。

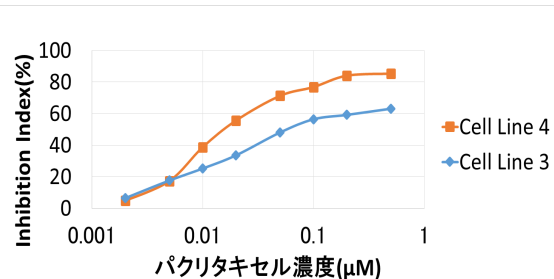


図4 Cell Line 4とCell Line 3のパクリタキセル感受性の比較

パクリタキセル感受性の低い細胞株 Cell Line 2,3 において、パクリタキセル感受性の高い細胞株 Cell Line 1,4 に比べて、タンパク発現の高いタンパク質スポットを 2D-DIGE 法を用いて、抽出したところ、4 つのスポットが検出された。これらのタンパク質スポットについて、クマシー染色を行ったゲルではこのうち3つの対応するタンパク質スポットを同定することができた。この3つのタンパク質スポットを切り出して、In gel digestion 法を用いてゲル内トリプシン消化を行い、得られたペプチド断片を質量分析計(MALDI-TOF MS)を用いて解析し、Mascot 解析を行い、対応するタンパク質を検出した。タンパク質スポット からは unnamed protein product、スポット からは ラボネーム protein 1、スポット からは

glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Chain A, AnnexinA2, Crystal Structure of Human Mu_crystallin At 2.6 Angstrom が検出された。このうち、図5に示したラボネーム protein 1 は他の癌で抗がん剤耐性を引き起こしているとの報告があるが、卵巣明細胞腺癌ではその報告がなく、このタンパクの卵巣明細胞腺癌における抗がん剤耐性との関連を明らかにすることで、新たな卵巣明細胞腺癌化学療法感受性マーカーを同定し、分子標的治療で標的とすることによって卵巣明細胞腺癌のパクリタキセル感受性を上昇させることができる分子を同定できる可能性が示唆された。

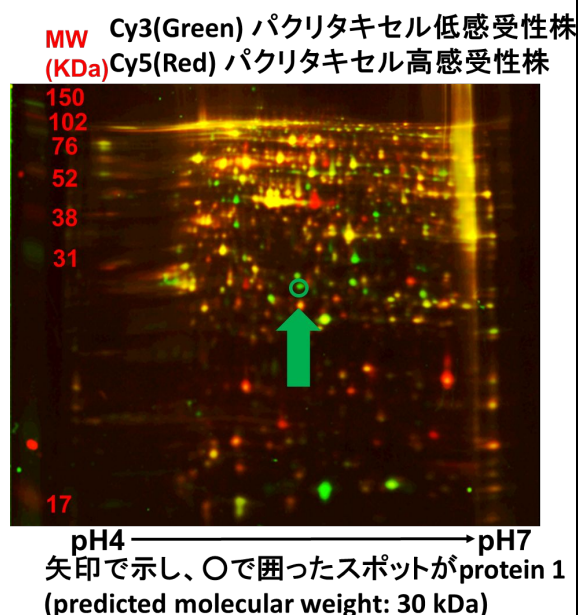


図5 ラボネーム protein 1 タンパクの検出されたタンパク質スポットの図

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)

池田さやか, 工藤一弥, 佐々木直樹, 後藤友子, 高野政志, 菊池良子, 坂本優, 喜多恒和, 菊池義公. カボザンチニブの併用は再発子宮平滑筋肉腫へのテモゾロミドとペパシズマブの治療効果を高める. 日本婦人科腫瘍学会雑誌, 査読有, 33巻, 2015, 564

Kikuchi R, Kikuchi Y, Tsuda H, Maekawa H, Kozaki KI, Imoto I, Tamai S, Shiotani A, Iwaya K, Sakamoto M, Sekiya T, Matsubara O, The expression and clinical significance of connective tissue growth factor in advanced head and neck squamous cell cancer., Human Cell, 査読有, Vol.27, No.3, 2014, pp. 121-128
DOI:10.1007/s13577-014-0092-0

Kawate T, Iwaya K, Kikuchi R, Kaise H, Oda M, Sato E, Hiroi S, Matsubara O, Kohno N, DJ-1 protein expression as a predictor of pathological complete remission after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients., Breast Cancer Research and Treatment, 査読有, Vol.139, No.1, 2013, pp. 51-59
DOI:10.1007/s10549-013-2523-0

〔学会発表〕(計12件)

Kazuya Kudoh, Yuji Ikeda, Masashi Takano, Hiroko Kouta, Tsunekazu Kita, Ryoko Kikuchi, Morikazu Miyamoto, Tomoyuki Yoshikawa, Tomoko Goto, Kenichi Furuya, Yutaka Tamada, Arata Suga, Yoshihiro Kikuchi, Weekly administration of bevacizumab, eribulin and oxaliplatin in patients with platinum-resistant ovarian carcinomas: a phase II study with biomarker analysis., 2015年5月29日~6月2日, The 51th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO), 「Chicago (USA)」

Masashi Takano, Hiroko Kouta, Kazuya Kudoh, Tsunekazu Kita, Ryoko Kikuchi, Morikazu Miyamoto, Tomoyuki Yoshikawa, Tomoko Goto, Kenichi Furuya, Yutaka Tamada, Arata Suga, Yoshihiro Kikuchi, Combination therapy with temsirolimus and trabectedin for recurrent clear cell carcinoma of the ovary: A phase II study with biomarker analysis., 2015年5月29日~6月2日, The 51th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO), 「Chicago (USA)」

Sayaka Ikeda, Kazuya Kudoh, Naoki Sasaki, Masashi Takano, Tomoko Goto, Ryoko Kikuchi, Masaru Sakamoto, Tsunekazu Kita, Nobuyuki Susumu, Daisuke Aoki, Hiroko Kouta, Yoshihiro Kikuchi, Synergistic effects of cabozantinib to temozolomide and bevacizumab in patients with heavily pretreated relapsed uterine leiomyosarcoma., 2015年5月29日~6月2日, The 51th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO), 「Chicago (USA)」

Masaru Sakamoto, Takafumi Kuroda, Keiji Morimoto, Ryoko Kikuchi, Kiyohiko

Miyake, Yasuko Koyamatsu, Tadao Tanaka, Aikou Okamoto, PDT for CIN3 and early stage cervical cancer might be superior therapy for fertility preservation in comparison with conization.、2015年4月9日~4月12日、第67回日本産科婦人科学会学術講演会、「パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)」

Yuji Ikeda, Masashi Takano, Hiroko Kouta, Naoki Sasaki, Sayaka Ikeda, Kazuya Kudoh, Tsunekazu Kita, Ryoko Kikuchi, Tomoko Goto, Kenichi Furuya, Yoshihiro Kikuchi、Weekly administration of bevacizumab, eribulin and oxaliplatin in patients with platinum-resistant and refractory ovarian carcinomas: a phase II study.、2014年5月30日~6月3日、The 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO)、「Chicago (USA)」

Naoki Sasaki, Hiroko Kouta, Masashi Takano, Kazuya Kudoh, Sayaka Ikeda, Tsunekazu Kita, Ryoko Kikuchi, Tomoko Goto, Kenichi Furuya, Nobuyuki Susumu, Yoshihiro Kikuchi, Weekly temozolomide plus bevacizumab in patients with recurrent uterine leiomyosarcoma: a phase II study.、2014年5月30日~6月3日、The 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO)、「Chicago (USA)」

菊池 良子、新規卵巣癌抑制遺伝子候補 CTGF(Connective Tissue Growth Factor) および ANGPTL2(Angiopoietin-Like Protein 2)の同定について、2013年8月10~8月11日、第31回日本ヒト細胞学会学術集会、「所沢市民文化センター・ミュージズ(埼玉県・所沢市)」

菊池 良子、アレイ CGH 法を用いたリンパ節転移陰性乳癌におけるゲノムコピー数変化の検出とその臨床応用に向けて、2013年6月22日~6月23日、第23回日本サイトメトリー学会学術集会、「日本医科大学橘桜会館(東京都・文京区)」

Masashi Takano, Hiroko Kouta, Yuji Ikeda, Naoki Sasaki, Kazuya Kudoh, Sayaka Ikeda, Tsunekazu Kita, Ryoko Kikuchi, Tomoko Goto, Kenichi Furuya, Yoshihiro Kikuchi、Combination chemotherapy with temsirolimus and trabectedin for recurrent clear cell carcinoma of the ovary: a phase II single arm clinical trial.、2014年5

月30日~6月3日、The 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO)、「Chicago (USA)」

Masashi Takano, Hiroko Kouta, Naoki Sasaki, Kazuya Kudoh, Tsunekazu Kita, Ryoko Kikuchi, Katsutoshi Oda, Tomoko Goto, Kenichi Furuya, Yoshihiro Kikuchi.、Combination chemotherapy with temsirolimus and trabectedin in patients with heavily pretreated clear cell carcinoma of the ovary.、2013年5月31日~6月4日、The 49th annual meeting of American Society of Clinical Oncology (ASCO)、「Chicago (USA)」

Yoshihiro Kikuchi, Masashi Takano, Yuji Ikeda, Ryoko Kikuchi, Kazuya Kudoh, Naoki Sasaki, Masaru Sakamoto, Tsunekazu Kita, Yasuhisa Terao, Satoru Takeda.、Beyond the bevacizumab resistance, combined effects of erlotinib in heavily pretreated patients with recurrent ovarian cancers.、2013年5月31日~6月4日、The 49th annual meeting of American Society of Clinical Oncology (ASCO)、「Chicago (USA)」

Naoki Sasaki, Hiroko Kouta, Yuji Ikeda, Masashi Takano, Ryoko Kikuchi, Kazuya Kudoh, Tsunekazu Kita, Kenichi Furuya, Yoshihiro Kikuchi.、Effects of temozolomide combined with bevacizumab in patients with relapsed uterine sarcoma.、2013年5月31日~6月4日、The 49th annual meeting of American Society of Clinical Oncology (ASCO)、「Chicago (USA)」

〔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 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 良子(KIKUCHI, Ryoko) 公益財団法人佐々木研究所・附属研究所・研究員(移行)
研究者番号: 80535063

(2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし