

令和元年6月14日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08355

研究課題名(和文) 低酸素関連因子の核内移行とその抑制効果の検討：治療的視野からみた個別化

研究課題名(英文) Nuclear translocation of hypoxia related factors and examination of its inhibitory effect: individualization from the therapeutic viewpoint

研究代表者

安田 政実 (Yasuda, Masanori)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：50242508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣明細胞において、低酸素誘導因子HIF-1 の遺伝子多型(C1772T)は、健常群や他癌腫よりも頻度が高いが、患者予後やその蛋白発現には影響しない。またHIF-1 やその制御因子であるヒストン脱アセチル化酵素HDAC6の免疫組織化学的発現は、ARID1A変異を持たない卵巣明細胞癌患者では予後と相関しないが、ARID1A変異を伴う卵巣明細胞癌患者においては生存期間を有意に短縮した。卵巣明細胞癌において、HIF-1 やHDAC6が予後予測因子や治療標的となりえること、またARID1Aがそのバイオマーカーとなる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣癌の中でも、卵巣明細胞癌は既存の化学療法に抵抗性とされ、有効な化学療法の開発が望まれている。我々の研究は卵巣明細胞癌の主要な遺伝子変異であるARID1Aをバイオマーカーとして、HIF-1 やHDAC6が予後予測因子や治療標的となりえることを見出した。卵巣癌においても組織型や遺伝子変異に応じて治療を個別化するべきと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In ovarian clear cell carcinomas, the single-nucleotide polymorphisms (C1772T) of hypoxia inducible factor (HIF)-1 is more frequent than in healthy group and other carcinomas, but it does not affect patient prognosis or its protein expression. Immunohistochemical expression of HIF-1 and its regulator histone deacetylase (HDAC)6 do not correlate with prognosis in ovarian clear cell carcinoma patients without ARID1A mutation, but with ARID1A mutation. Significantly reduced survival time. In clear cell ovarian carcinomas, we found that HIF-1 and HDAC6 could be prognostic factors and therapeutic targets, and that ARID1A could be a biomarker.

研究分野：婦人科腫瘍病理学

キーワード：低酸素誘導因子 ヒストン脱アセチル化酵素 卵巣癌 卵巣明細胞癌 ARID1A

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

卵巣癌は婦人科悪性腫瘍の中で最も死亡者数が多く、外科的切除に加えて化学療法が治療の中心にある。組織型によって化学療法への反応が大きく異なり、高異型度漿液性癌は化学療法に高感受性であるが、明細胞癌は化学療法に低感受性である。また高異型度漿液性癌においても、高率に再発し、次第に化学療法への抵抗性を獲得することが知られている。このように卵巣癌治療においては、化学療法抵抗性の組織型や再発例に対する有効な化学療法が模索されている。

低酸素誘導因子 hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) は、通常の酸素状態下ではユビキチンリガーゼが結合して速やかに分解されるが、低酸素環境に陥ると細胞質に蓄積して核内に移行する。HIF-1 は核内で様々な腫瘍増殖因子 - vascular endothelial growth factor (VEGF)、glucose transfactor-1 (GLUT-1)、erythropoietin - を亢進する。我々はこれまでに卵巣明細胞癌において HIF-1 の発現が他の組織型よりも亢進していることを見出した (Pathol Int. 2009 Jan; 59(1):19-27.)。HIF-1 の細胞質内の安定や核内への移行には、ヒストン脱アセチル化酵素 histone deacetylase (HDAC) が関与する。HDAC はヒトでは 18 種類が発見され、HDAC1、3、4、6 は HIF-1 を細胞質内で安定化させ、HDAC7 は HIF-1 と複合体を形成して核内移行を促すとされる。HIF-1 や HDAC は様々な癌腫において、治療標的となる可能性が模索されている。

### 2. 研究の目的

卵巣癌において、HIF-1 や HDAC の発現には組織型特異性があるのか、また予後影響因子となりうるのかを調査する。また HIF-1 の遺伝子多型 (C1772T と G1790A) がその蛋白発現に影響を与えるかも調査する。それらは、特に HIF-1 の発現が亢進しているとされる明細胞癌、その主要な遺伝子変異である ARID1A に着目して行う。さらに卵巣癌細胞株を使用して HIF-1 や HDAC の阻害剤投与実験を行い、治療標的としての可能性を模索する。

### 3. 研究の方法

卵巣明細胞癌 89 例について、低酸素誘導因子 HIF-1 の遺伝子多型 (C1772T と G1790A) を解析し、その頻度や予後を中心とした臨床病理学的所見との相関を解析した。また既報文献のレビューによって健常者や他癌腫との比較を行った。次に、卵巣癌 201 例についてホルマリン固定パラフィンブロック標本を用いた組織マイクロアレイを作成して、ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC1-7 の免疫組織化学を行った。HDAC1-7 の免疫組織化学的発現と、組織型や患者予後との相関を解析した。さらには、卵巣明細胞癌 106 例についても同様に組織マイクロアレイを作成して、HIF-1 や HDAC6、ARID1A 等の免疫組織化学を行った。ARID1A の状態ごとに、HIF-1 や HDAC6 の免疫組織化学的発現が卵巣明細胞癌患者の予後に与える影響を調査した。さらに卵巣癌細胞株について、既存の化学療法に対しての高感受性株と低感受性株それぞれに、HIF-1 阻害剤 (Silibinin) や HDAC6 阻害剤 (Ricolinostat) を投与して、化学療法の感受性を改善するか否かを調査した。

### 4. 研究成果

卵巣明細胞癌において、HIF-1 の遺伝子多型 (C1772T) は、健常群や他癌腫よりも頻度が高いが、患者予後やその蛋白発現には影響しなかった。このことから HIF-1 は遺伝子多型よりも、翻訳後に起こる活性・分解の制御が重要であると考えた。次に、HIF-1 の翻訳後制御因子である HDAC の免疫組織化学的発現は、卵巣癌の組織型ごとに発現パターンやその予後に与える影響が異なることを見出された。特に HDAC6 や HDAC7 は明細胞癌で組織型特異的に高発現し、予後不良となる傾向がみられた。さらには、HIF-1 や HDAC6 の免疫組織化学的発現は、ARID1A 変異を伴わない卵巣明細胞癌患者では予後と相関しないが、ARID1A 変異を伴う卵巣明細胞癌患者においては生存期間を有意に短縮した。卵巣明細胞癌において、HIF-1 や HDAC6 が予後予測因子や治療標的となりえること、また ARID1A がそのバイオマーカーとなる可能性を見出した。

HIF-1 阻害剤 (Silibinin) や HDAC6 阻害剤 (Ricolinostat) の投与実験については、組織型ごとや ARID1A 変異ごと、さらには既存の化学療法への感受性ごとの細胞株において実験・解析が進行中であり、今後の課題とした。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

Yano M, Katoh T, Miyazawa M, Miyazawa M, Ogane N, Miwa M, Hasegawa K, Narahara H, Yasuda M. Clinicopathological correlation of ARID1A status with HDAC6 and its related factors in ovarian clear cell carcinoma. Sci Rep. 2019 Feb 20;9(1):2397.

査読あり

Suzuki H, Yano M, Miyazawa M, Miyazawa M, Ogane N, Hasegawa K, Tsuda H, Yoshida M, Okagaki R, Ishihara O, Yasuda M. Association of the hypoxia-inducible

factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) gene polymorphisms with prognosis in ovarian clear cell carcinoma. *J Ovarian Res.* 2019 Jan 24;12(1):7. 査読あり

Yano M, Asami Y, Nishikawa T, Yoshida S, Kamada K, Katoh T, Teramoto Y, Nakamura Y, Yasuda M. Immune checkpoint inhibitors of CTLA4 and PD-1 for malignant melanoma arising in ovarian cystic teratoma: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2018 Oct;97(43):e12937. 査読あり

Yano M, Yasuda M, Sakaki M, Nagata K, Fujino T, Arai E, Hasebe T, Miyazawa M, Miyazawa M, Ogane N, Hasegawa K, Narahara H. Association of histone deacetylase expression with histology and prognosis of ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2018 Mar;15(3):3524-3531. 査読あり

Ogane N, Yasuda M, Kato H, Kato T, Yano M, Kameda Y, Kamoshida S. Cleaved caspase-3 expression is a potential prognostic factor for endometrial cancer with positive peritoneal cytology. *Cytopathology.* 2018 Jun;29(3):254-261. 査読あり

Miyasaka A, Nishikawa T, Kozawa E, Yasuda M, Fujiwara K, Hasegawa K. Advanced Mucinous Adenocarcinoma Arising from a Mature Cystic Teratoma: A Case Report and Literature Review. *Case Rep Oncol.* 2016 Jun 27;9(2):331-7. 査読あり

Shida M, Yasuda M, Fujita M, Miyazawa M, Kajiwara H, Hirasawa T, Ikeda M, Matsui N, Muramatsu T, Mikami M. Possible role of thymidine phosphorylase in gynecological tumors as an individualized treatment strategy. *Oncol Lett.* 2016 Nov;12(5):3215-3223. 査読あり

Ikeda Y, Yasuda M, Kato T, Yano Y, Kurosaki A, Hasegawa K. Synchronous mucinous metaplasia and neoplasia of the female genital tract with external urethral meatus neoplasm: A case report. *Gynecol Oncol Rep.* 2015 Feb 17;12:27-30. 査読あり

Takahashi M, Kozawa E, Tanisaka M, Hasegawa K, Yasuda M, Sakai F. Utility of histogram analysis of apparent diffusion coefficient maps obtained using 3.0T MRI for distinguishing uterine carcinosarcoma from endometrial carcinoma. *J Magn Reson Imaging.* 2016 Jun;43(6):1301-7. 査読あり

Kurosaki A, Hasegawa K, Kato T, Abe K, Hanaoka T, Miyara A, O'Shannessy DJ, Somers EB, Yasuda M, Sekino T, Fujiwara K. Serum folate receptor alpha as a biomarker for ovarian cancer: Implications for diagnosis, prognosis and predicting its local tumor expression. *Int J Cancer.* 2016 Apr 15;138(8):1994-2002. 査読あり

[学会発表](計18件)

矢野光剛, 榊美佳, 永田耕治, 藤野節, 新井栄一, 長谷部孝裕, 小笠原仁子, 宮澤麻里子, 宮澤昌樹, 安田政実. 進行卵巣癌における HDAC の発現と化学療法感受性の相関. 第 107 回病理学会総会 (2018)

Mitsutake Yano, Mariko Miyazawa, Masaki Miyazawa, Maiko Miwa, Kosei Hasegawa, Hisashi Narahara, Masanori Yasuda. 明細胞癌の治療標的として HDAC6 の可能性 ~ ARID1A に着目して ~. 第 15 回病理学会カンファレンス (2018)

Mitsutake Yano, Mariko Miyazawa, Masaki Miyazawa, Maiko Miwa, Kosei Hasegawa, Hisashi Narahara, Masanori Yasuda. HDAC6 as a therapeutic target for ovarian clear cell carcinoma, in association with ARID1A loss. 17th Biennial Meeting of the

International Gynecologic Cancer Society (国際学会)(2018)

Mitsutake Yano, Tomomi Katoh, Mariko Miyazawa, Masaki Miyazawa, Naoki Ogane, Maiko Miwa, Kosei Hasegawa, Hisashi Narahara, Masanori Yasuda . Clinicopathological correlation of ARID1A status with HDAC6 and its related factors in ovarian clear cell carcinoma . The 108th Annual Meeting of United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP) (国際学会)(2018)

宮澤麻里子, 安田政実, 宮澤昌樹, 矢野光剛, 加藤智美, 大金直樹, 平澤猛, 松井成明, 林優, 三上幹男 . Silibinin による HIF-1 阻害の検討: 卵巣癌化学療法における補助的意義 . 第 107 回病理学会総会 (2018)

矢野 光剛, 加藤 智美, 長谷川 幸清, 榊 美佳, 永田 耕治, 新井 栄一, 長谷部 孝裕, 宮澤 麻里子, 宮澤 昌樹, 榎原 久司, 安田 政実 . 卵巣癌における HDAC の免疫組織化学的発現の検討 . 第 59 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 (2017)

成清 羊佳, 周東 真代, 渡辺 宏志, 加藤 智美, 鎌田 孝一, 矢野 光剛, 長谷川 幸清, 新井 栄一, 長谷部 孝裕, 安田 政実 . 卵巣上皮性腫瘍における上皮と間質の解析【第 2 報】 . 第 106 回日本病理学会総会 (2017)

矢野 光剛, 加藤 智美, 鎌田 孝一, 長谷川 幸清, 榊 美佳, 永田 耕治, 藤野 節, 新井 栄一, 長谷部 孝裕, 安田 政実 . 卵巣癌における HDAC の免疫組織化学的発現の検討 . 第 106 回日本病理学会総会 (2017)

宮澤 麻里子, 安田 政実, 平澤 猛, 宮澤 昌樹, 林 優, 加藤 智美, 松井 成明, 梶原 博, 信田 政子, 池田 仁恵, 村松 俊 成, 三上 幹男 . Silibinin による HIF-1 阻害の検討; 卵巣癌化学療法における補助的意義 . 第 59 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 (2017)

安田政実 . 最近の WHO 婦人科病理分類と細胞診 (像) の対比 . 第 57 回日本臨床細胞学会総会春期大会 (2016)

安田政実 . 「WHO2014 準拠卵巣腫瘍取扱い規約」の改訂で現場の対応はどう変わるか . 第 105 回日本病理学会総会 (2016)

安田政実, 菊地 淳 . 腹膜悪性中皮腫の 2 例 . 第 44 回日本婦人科病理学会学術集会 (2016)

安田政実 . 細胞学の基礎 形態と機能 病理形態の基礎と、病理診断における機能的洞察 . 第 58 回日本婦人科腫瘍学会 (2016)

安田政実 . 細胞診から考える境界病変 WHO 分類改定の影響 . 第 55 回日本臨床細胞学会秋期大会 (2015)

Yasuda M . Germ cell tumour of the ovary . The 19th Korea Taiwan Japan Joint Meeting for Gynecological Pathology (国際学会)(2016)

加藤智美, 佐瀬智子, 鎌倉靖夫, 菊地淳, 大金直樹, 小澤栄人, 今井雄一, 長谷川幸清, 梶原博, 安田政実 . 子宮内膜ポリープ由来癌の細胞像および臨床病理学的背景 . 第 56 回日本臨床細胞学会総会 (春期大会)(2015)

成清羊佳, 加藤智美, 細沼沙紀, 鎌倉靖夫, 周東真代, 渡辺宏志, 矢野友 梨, 小澤栄人, 永田耕治, 安田政実 . 女性生殖器と外尿道口に同時に発生した粘液性腫瘍の一例 . 第 54 回日本臨床細胞学会秋期大会 (2015)

安田政実 . 子宮体癌の初期病変・前駆病変の実際 WHO 分類の考え方 . 第 43 回日本婦人科病理学会学術集会 (2015)

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。