

平成30年 9月10日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10434

研究課題名(和文) CDK4を標的とした骨軟部腫瘍の新規治療法の開発

研究課題名(英文) CDK4 target therapy for bone and soft tissue tumors

研究代表者

生越 章 (Ogose, Akira)

新潟大学・医歯学総合病院・特任教授

研究者番号：80323963

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：148症例の骨軟部肉腫のMDM2, CDK4のmRNAの発現を定量的PCRにて評価した。MDM2, CDK4, いずれも正常脂肪に比して二倍以上の高発現している腫瘍は高分化型脂肪肉腫32/35例、および脱分化型脂肪肉腫5/5例であり、この二つのタイプの脂肪肉腫に特異性が高かった。二種類のCDK4阻害剤(LY2835219, PD0332991)を用いて増殖抑制試験をin vitroにて行った。脂肪肉腫に特異性の高い抑制効果はなかった。NDDLS1細胞においてはCDK4のみが増殖を規定している因子ではない可能性を示す実験結果と推察している。

研究成果の概要(英文)：Expression of mRNA of MDM2, CDK4 of bone soft tissue sarcoma of 148 cases was evaluated by quantitative PCR. MDM 2, CDK 4, tumors that are more than twice as much expressed as normal fats are well-differentiated liposarcoma 32/35 cases, and dedifferentiated liposarcoma 5/5 cases, which were highly specific to these two types of liposarcoma. In other words, high tumors with both factors are diagnosed at first glance to other tissue types. Growth inhibition tests were performed in vitro using two CDK4 inhibitors (LY 2835219, PD 0332991). The IC50 for liposarcoma cell NDDLS1 was LY2835219 at 19.5  $\mu\text{mol} / \text{L}$ . The original hypothesis that inhibitors act specifically on liposarcoma highly expressing CDK4 was denied. this is. It is presumed that in NDDLS1 cells, only CDK4 is an experimental result showing the possibility that it is not a factor regulating proliferation.

研究分野：整形外科

キーワード：liposarcoma CDK4 osteosarcoma

## 1. 研究開始当初の背景

脂肪肉腫は、軟部肉腫で最多のものであり、四肢のみならず腹腔にも発生する。高齢化社会を迎えたわが国ではその罹患患者は増加の一途にあるが、手術後に再発や転移をきたした場合有効な補助療法は確立しておらず、予後不良例も多い。

## 2. 研究の目的

脂肪肉腫で最多の高分化型脂肪肉腫と脱分化型脂肪肉腫では、DNA レベルでの MDM2 遺伝子と CDK4 遺伝子の増幅がみられることが知られているが、CDK4 を標的とする分子標的治療を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本学倫理委員会の承認と患者さんからのインフォームドコンセントの元に保存した骨軟部腫瘍の凍結切片および抽出RNAについて正常脂肪組織を標準とした定量PCRをトリプルセットで施行しCDK4遺伝子の発現量を定量評価する。

培養細胞に対する3種類のCDK4阻害剤の増殖抑制効果を評価

各培養細胞に関してin vitroにてXTTアッセイを用いてCDK4阻害剤のIC50を求める。CDK4が過剰発現しているため理論的に治療効果が大きいと期待されるNDDLS-1および抗なお既報にてCDK4阻害剤

PD0332991 (Palbociclib) に感受性のある乳がん細胞を陽性コントロールとして薬剤効果を評価する。

## 4. 研究成果

骨軟部腫瘍におけるMDM2、CDK4の発現解析

148症例の骨軟部肉腫のMDM2、CDK4のmRNAの発現を定量的PCRにて評価した。MDM2、CDK4、いずれも正常脂肪に比して二倍以上の高発現している腫瘍は高分化型脂肪肉腫32/35例、および脱分化型脂肪肉腫5/5例であり、この二つのタイプの脂肪肉腫に極めて特異性が高かった。なお骨外性骨肉腫と診断されていた4例中2例に両者が高発現していたが、再度病理組織所見を検討した結果、脱分化型脂肪肉腫と訂正診断がなされた。すなわち両因子が高い腫瘍

は一見ほかの組織型に診断されても脱分化型脂肪肉腫である可能性が高いことを念頭に置く必要がある。この研究結果は「骨外性骨肉腫と脱分化型脂肪肉腫の鑑別におけるCDK4とMDM2の発現差異」として論文作成中である。

## 2: CDK4阻害剤による脂肪肉腫の増殖抑制試験

二種類のCDK4阻害剤 (LY2835219, PD0332991) を用いて増殖抑制試験をin vitroにて行った。脂肪肉腫細胞NDDLS1に対するIC50はLY2835219で19.5 μmol/L, PD0332991で45.8 μmol/Lであり、線維肉腫細胞HT1080ではそれぞれ17.7 μmol/L、50.6 μmol/L、であった。一方乳がん細胞MCF7ではいずれも856 μmol/L, 2080 μmol/LでありMCF7に対しては両肉腫の感受性は高かったが、CDK4高発現している脂肪肉腫に特異的に阻害剤が作用するという当初の仮説は否定された。これNDDLS1細胞においてはCDK4のみが増殖を規定している因子ではない可能性を示す実験結果と推察している。

実際本研究施工中にJAMA Oncol 2016にProgression-free survival among patients with well-differentiated or dedifferentiated liposarcoma treated with CDK4 inhibitor Palbociclib. という研究が発表された。腫瘍の増殖抑制がみられる例もあるが期待されたほどの抗腫瘍効果は多くの症例では観察されなかった。しかし完全寛解に至った症例もありその間銃声の有無が何に起因するのかに対するさらなる解析が必要と考えられた。

## 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 12 件)

Yamagishi T, Kawashima H, Ogose A, Sasaki T, Hotta T, Inagawa S, Umezumi H, Endo N Disappearance of giant cells and

presence of newly formed bone in the pulmonary metastasis of sacral giant cell tumor following Denosumab treatment: A case report *Oncology Letters* 2016;11:243-246

Yamagishi T, Kawashima H, Ogose A, Ariizumi T, Sasaki T, Hatano H, Hotta H, Endo N. Receptor-activator of nuclear kappa B ligand expression as a new therapeutic target in primary bone tumors. *Plos One* 2016;10:e0154680.

Kawashima H, Ariizumi T, Saijo Y, Moriyama M, Umezumi H, Ikeda Y, Ogose A, Endo N. Chromosomal rearrangements in myoepithelial carcinoma of the breast that presented as metachronic double cancer with invasive ductal carcinoma in the ipsilateral breast. *Cancer Genet.* 2016;209:501-505

Iwabuchi H, Kawashima H, Umezumi H, Takachi T, Imamura M, Saitoh A, Ogose A, Imai C. Successful treatment of histiocytic sarcoma with cladribine and high-dose cytosine arabinoside in a child. *Int J Hematol* 2017;106:299-303

Oike N, Kawashima H, Ogose A, Hotta T, Hirano T, Ariizumi T, Yamagishi T, Umezumi H, Inagawa S, Endo N. A malignant solitary fibrous tumour arising from the first lumbar vertebra and mimicking an osteosarcoma: a case report. *World J Surg Oncol.* 2017;11:100.

Sasaki T, Kawashima H, Ariizumi T, Yamagishi T, Oike N, Umezumi H, Inagawa S, Hotta T, Endo N, Ogose A. Denosumab as a potential therapeutic option for leiomyosarcoma with osteoclast-like giant cells: A case report. *Mol Clin Oncol* 2018;8:30-33.

Ogose A, Kawashima H, Hotta T, Ariizumi

T, Yamagishi T, Oike N, Sasaki T, Hatano H, Umezumi H, Endo N. Frequent expression of human leukocyte antigen class I and the status of intratumoral immune cells in alveolar soft part sarcoma. *Oncology Letters.* 2017,13:2169-2176.

生越章 骨・軟部腫瘍診療におけるピットフォール腫瘍が怖くなるために一日整会誌 2016 ; 90 : 229-236.

生越章 骨転移とともに生きる 新潟県医師会報 2016;797:2-8

生越章 川島寛之 有泉高志 堀田哲夫 大池直樹 山岸哲郎 畠野宏史 佐々木太郎 大塚寛 遠藤直人 骨・軟部腫瘍における時間学 骨・軟部肉腫は先天性か一日整会誌 2017;91:417-422.

松田康彦 川島寛之 山岸哲郎 佐々木太郎 生越章 堀田哲夫 遠藤直人 骨芽細胞様細胞 Saos-2, NOS-1 における IL-6 による RANKL 発現誘導 東北整災誌 2016 ; 59 : 58-61 .

大池直樹、畠野宏史、川島寛之、小林宏人、佐々木太郎、堀田哲夫、生越章、有泉高志、山岸哲郎、遠藤直人 小児骨肉腫治療後の二次がん発生状況とその特徴 東北整災誌 2017 ; 60 : 50-55

〔学会発表〕(計 2 件)

生越章 川島寛之 有泉高志 堀田哲夫 山岸哲郎 大池直樹 遠藤直人 畠野宏史 佐々木太郎 骨軟部肉腫の時間学的解析 (シンポジウム) 第49回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 2016年7月14-15日 東京

Ogose A, Kawashima H, Hotta T, Ariizumi T, Yamagishi T, Oike N, Sasaki T, Hatano H, Umezumi H, Endo N. Frequent expression of human leukocyte antigen class I and the status of intratumoral immune cells in alveolar soft part sarcoma. 19<sup>th</sup> International Symposium of Limb Salvage 2017年5月10-12日 金沢

〔図書〕(計 3 件)

日本整形外科学会・日本病理学会編 生  
越章 他： 整形外科・病理 悪性骨腫瘍  
取り扱い規約 2015年 金原出版

生越章 横紋筋肉腫 今日の整形外科治  
療指針 第7版 土屋弘行 紺野慎一 田  
中康仁 田中栄 松田秀一 編 医学書院  
2016 pp212-213.

生越章 よくみられる軟部腫瘍・腫瘍類  
似疾患 専門医の整形外科外来診療 富士  
武史 田辺秀樹 大川淳 編 南江堂  
2017 pp57-59

〔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

生越 章 (OGOSE, Akira)  
新潟大学・医歯学総合病院・特任教授  
研究者番号： 80323963