

令和元年5月20日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10722

研究課題名(和文) 卵巣明細胞腺癌における静脈血栓塞栓症の発症メカニズムの解明と治療戦略

研究課題名(英文) The development of the novel strategy for venous thromboembolism in ovarian clear cell carcinomas

研究代表者

坂口 勲 (SAKAGUCHI, ISAO)

熊本大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40448527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣癌症例における静脈血栓塞栓症の合併に関する臨床的検討を行った。D-dimer値が1.5ug/ml以上や明細胞癌で有意に静脈血栓塞栓症を合併することが確認された。卵巣明細胞癌における静脈血栓症の発症メカニズムの解明を目的にがん抑制遺伝子であるARID1Aとその関連蛋白の候補としてDNA microarrayで抽出されたTM4SF1、MCAM、PPP3CAおよびKRAT15の発現について検討を行った。今回の検討では卵巣癌組織における免疫組織化学からは静脈血栓症の発生に関わるARID1AとTM4SF1、MCAM、PPP3CA、KRAT15の発現に関する因果関係は明らかとはならなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣癌明細胞癌における静脈血栓塞栓症の合併が他の組織型に比べて高率であることが改めて確認された。卵巣明細胞癌ではARID1A遺伝子が40%程度変異していることが知られているが、今回の研究では静脈血栓塞栓症とARID1A遺伝子変異を結びつける新たな分子の同定には至らなかった。卵巣癌の周術期または術後の追加治療としての抗癌化学療法の際に静脈血栓塞栓症を合併していることは全身管理の観点から致死性の危険因子の一つと捉えられている。今後さらなる研究の継続を行い、静脈血栓塞栓症の原因検索とその予防方法を模索すべきである。

研究成果の概要(英文)：A venous thromboembolism (VTE) is prevalent in patients with ovarian clear cell carcinomas (OCCC). We investigated incidence, clinical pattern and outcome and detected risk factors for VTE in association with ovarian cancer. In ovarian cancer patients, univariate and multivariate analysis revealed that D-dimer>1.5ug/ml and OCCC were risk factors for VTE. ARID1A mutations in OCCC was reported in previous studies. The aim of this study was to identify genes correlated with expression of ARID1A in OCCC with VTE. We investigated the relationship between ARID1A and candidate protein (TM4SF1, MCAM, PPP3CA and KRAT15) identified by using DNA microarray technology. Consequently, ARID1A expression was not significantly associated with candidate proteins (TM4SF1, MCAM, PPP3CA and KRAT15) in OCCC.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣癌 明細胞癌 静脈血栓塞栓症

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

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景:

本邦において、卵巣癌は近年著しい増加を示しており、その死亡数は 1950 年から 2000 年の半世紀の間に 11.5 倍に増加している。最近では毎年の罹患数は 8,000 人で、死亡数は 4,500 人である。欧米と異なり卵巣癌の組織型の一つである明細胞癌の増加が本邦における急激な患者数の増加の一因と考えられている。日本産科婦人科学会婦人科腫瘍登録の卵巣明細胞癌の発生頻度からみると、発生率は 20% 以上であり、2001 年の 18.5% から増加の一途をたどり、2006 年度には 21.9% に達している。これに対して 1999-2001 年の国際産科婦人科連合 (International Federation of Gynecology and Obstetrics; FIGO) の年次報告によると、卵巣明細胞癌は世界的に全卵巣癌の 8.3% を占めると報告されている。また、2001~2005 年の米国における卵巣明細胞癌の頻度は 4.9% とされている。直接的に欧米と日本の臨床データを比較した研究はないが、本邦の明細胞癌症例は欧米と比較して頻度は高いと考えられる。

2010 年に Duska LR, et al. は卵巣癌の組織型と静脈血栓症の合併について臨床的な検討を行い、卵巣明細胞癌 43 例のうち 18 例 (41.9%) に静脈血栓症を合併し、他の組織型 86 例では 19 例 (22.1%) であったことを報告した。また卵巣明細胞癌患者における静脈血栓症の危険率は他の組織型と比較して 2.5 倍になることを指摘している。また Lim MC, et al. は卵巣明細胞癌 43 例のうち 8 例 (18.6%) に深部静脈血栓症を合併し、このうち 3 例が肺塞栓症を伴っていたことを報告している。両報告は発生頻度が異なるもののいずれも卵巣明細胞癌と静脈血栓症との合併を示唆するものであった。

2007 年から 2011 年の 5 年間に当施設で行った婦人科手術 1,756 例のうち CT-scan または下肢静脈超音波断層法にて静脈血栓症または肺塞栓症と診断した症例は 23 例 (1.3%) であった。この内訳は卵巣癌 12 例 (52.3%) で最多で、これに子宮体癌 4 例 (17.4%)、子宮肉腫 2 例 (8.8%)、良性卵巣腫瘍 2 例 (8.8%)、子宮頸癌 1 例 (4.3%)、腹膜癌 1 例 (4.3%) および子宮筋腫 1 例 (4.3%) が続いた。卵巣癌 12 例における組織型を検討したところ、明細胞癌 4 例、漿液性癌 3 例、類内膜癌 2 例および粘液性癌 1 例であり、さらに明細胞癌、漿液性癌および類内膜癌の混合型 1 例、漿液性癌および類内膜癌の混合型 1 例を認めた。混合型を含めると明細胞癌または漿液性癌の成分を含んだ症例がそれぞれ 5 例 (41.7%) と最も多くこれらの組織型と静脈血栓症との関係を検討する必要がある。

Michigan 大学病理学 Kathleen R. Cho 研究室と共同で siRNA 法により ARID1A 蛋白の発現を抑制した卵巣癌細胞安定株を樹立した。これらの細胞株を用いた DNA マイクロアレイにより、細胞の形質膜の糖蛋白である Transmembrane-4 L-six family member-1 (TM4SF1) が過剰に発現していることが示唆された。TM4SF1 は肺癌、乳癌、大腸癌、前立腺癌で過剰発現しており、TM4SF1 蛋白のノックダウンにより血管新生が阻害されることが Cancer Research 誌に報告されている。卵巣明細胞癌における ARID1A と TM4SF1 の関与を検討することにより血管新生と血液凝固活性の観点から静脈血栓症との因果関係を解明する。

2. 研究の目的

近年、本邦において急増している静脈血栓症と卵巣癌との関連が注目されている。とくに本邦では卵巣明細胞癌患者が増加傾向にあり、この特徴的な臨床像として、他の組織型に比して静脈血栓症の合併率が高いことが知られている。周術期または術後の追加治療としての抗癌化学療法の際に深部静脈血栓症および肺塞栓症を合併していることは全身管理の観点から致死性の危険因子の一つと捉えられている。

本研究ではまず卵巣癌における静脈血栓症合併に関する臨床背景を検討する。さらに基礎研究として卵巣明細胞癌の原因遺伝子である ARID1A 蛋白の発現と静脈血栓症の臨床的因果関係を検討し、さらに分子レベルにおける ARID1A 蛋白と静脈血栓症関連分子との相互関係について解明することを目的とする。

以前の研究で siRNA 法により ARID1A の発現を抑制した卵巣癌細胞株における DNA マイクロアレイにより同細胞株で TM4SF1 が過剰に発現していることが示唆された。過去の報告により肺癌、乳癌、大腸癌、前立腺癌において TM4SF1 が過剰発現されており、ノックダウンにより血管新生が阻害されることが知られている。今回、卵巣明細胞癌の症例集積により ARID1A、TM4SF1 の発現の相関について検討を進める。さらに静脈血栓症を含めた臨床データとの因果関係について検討を進める。さらに以前の DNA マイクロアレイの結果により、ARID1A の発現を抑制した卵巣癌細胞株における DNA マイクロアレイにより同細胞株で TM4SF1 以外では KRT15 も過剰発現し、さらに MCAM、PPP3CA の発現が低下することが示唆されていた。今回、KRT15、MCAM、PPP3CA の免疫組織化学も検討した。

3. 研究の方法

当施設で加療を行った卵巣癌症例において静脈血栓症との関連性について臨床的検討を行う。具体的には静脈血栓症を合併した卵巣癌 12 例と非合併症例の 178 例の 2 群間で年齢、BMI、D-dimer 値、進行期分類および組織型にて比較検討を行う。

卵巣明細胞癌症例における ARID1A 遺伝子との関連分子を抽出するために早期の卵巣癌症例における TM4SF1、KRT15、MCAM、PPP3CA の蛋白発現について免疫組織化学にて検討を行う。

4 . 研究成果

(臨床研究)

2007 年から 2011 年の 5 年間に当施設で加療を行った 190 例の卵巣癌において静脈血栓症を合併していたのは 12 例であった。静脈血栓症を合併した卵巣癌 12 例と非合併症例の 178 例との 2 群間の比較では年齢、BMI、D-dimer 値、進行期分類および組織型にて比較検討を行う。単変量解析で D-dimer 値が 1.5ug/ml 以上で有意に静脈血栓症を合併した。多変量解析では組織型別で卵巣明細胞癌が他の組織型と比較して静脈血栓症を有意に合併することが明らかとなった。BMI が 25kg/m² 以上の肥満症例でも静脈血栓症を合併する傾向があった。

卵巣癌症例における臨床的検討

Risk factor	VTE (-)	VTE (+)	P-value
Univariate			
Age			
<50 years	61	5	
≥50 years	117	7	0.835
D-dimer			
<1.5ug/ml	89	0	
≥1.5ug/ml	89	12	0.002
BMI			
<25kg/m ²	143	7	
≥25kg/m ²	35	5	0.149
FIGO stage			
I / II	108	5	
III / IV	70	7	0.32
Histological type			
non-CCA	159	8	
CCA	19	4	0.061

Risk factor	OR	95%CI	P-value
Multivariate			
Age≥50 years	0.58	0.14-2.37	0.45
D-dimer≥1.5ug/ml	705.74	0.21-2339232	0.11
BMI≥25kg/m ²	3.74	0.93-15.11	0.064
FIGO stage III /IV	1.3	0.34-5.06	0.7
CCA	7.19	1.39-37.21	0.02

VTE : venous thromboembolism

卵巣癌における組織型別の検討

Histological type	VTE (-), n=178	VTE (+), n=12	OR (95%CI)	P-value
SA (%)	59 (96.7)	2 (3.3)	0.44 (0.09-2.06)	0.453
EA (%)	28 (93.3)	2 (6.7)	1.07 (0.22-5.16)	0.747
CCA (%)	19 (82.6)	4 (17.4)	4.18 (1.51-15.22)	0.061
MA (%)	15 (88.2)	2 (11.8)	2.17 (0.44-10.85)	0.656
Others (%)	9 (81.8)	2 (18.2)	3.76 (0.71-19.75)	0.304
SA+EA	1			
SA+EA+CCA	1			
Borderline tumor (%)	48 (100)	0 (0)		0.082

SA : serous adenocarcinoma, EA : endometrioid adenocarcinoma,
CCA : clear cell adenocarcinoma, MA : mucinous adenocarcinoma

(基礎研究)

今回卵巣明細胞癌のうち摘出組織切片が残存し免疫組織化学が検討できた 期の症例 6 例を抽出し、ARID1A、TM4SF1 の発現について検討した。尚、この 6 例には血栓症を合併してなかった。6 例中 3 例 (50.0%) に ARID1A の発現は低下していた。TM4SF1 は 6 例中 4 例に発現していたが、この ARID1A の発現低下がみられた 3 例中では TM4SF1 の発現を認めたのは 1 例のみであった。6 例のすべての症例で KRT15 および MCAM の発現は認められなかった。また 6 例中、PPP3CA の発現は 4 例でみられ 2 例で低下していた。PPP3CA の発現が低下していた 2 例中 1 例は ARID1A の発現も低下していた。検討した症例数は少ないが、マイクロアレイで抽出した 4 つの蛋白と ARID1A 蛋白との明らかな因果関係を示すことはできなかった。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

Tayama S, Motohara T, Narantuya D, Li C, Fujimoto K, Sakauchi I, Tashiro H, Saya H, Nagano O, Katabuchi H.

The impact of EpCAM expression on response to chemotherapy and clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer.

Oncotarget. 2017 ; 8 : 44312-44325. doi: 10.18632/oncotarget.17871. 査読有

Motohara T, Fujimoto K, Tayama S, Narantuya D, Sakaguchi I, Tashiro H, Katabuchi H.
CD44 Variant 6 as a Predictive Biomarker for Distant Metastasis in Patients With
Epithelial Ovarian Cancer.
Obstet Gynecol. 2016 ; 127 : 1003-11. doi: 10.1097/AOG.0000000000001420. 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

16th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society (October 28-31,
2016, Lisbon, Portugal)
Clinical analysis of 8 cases with ovarian teratoma associated with anti-NMDA receptor
encephalitis
Sakaguchi I.¹⁾, Iwagoi Y.¹⁾, Shibasaki S.¹⁾, Motohara T.¹⁾, Tashiro H.²⁾, Ohba T.¹⁾, Katabuchi
H.¹⁾
Department of Obstetrics and Gynecology¹⁾, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University,
School & Graduate School of Health Sciences²⁾

第 68 回日本産科婦人科学会学術講演会(2016 年 4 月 21 ~ 24 日 : 東京都)
抗 N-methyl-D-aspartate 受容体脳炎を伴った卵巣奇形腫 8 例の臨床的検討: 婦人科の観点から
熊本大学大学院生命科学研究部産科婦人科学分野¹⁾、母子看護学分野²⁾
坂口 勲¹⁾、田山親吾¹⁾、齋藤文誉¹⁾、高石清美¹⁾、本原剛志¹⁾、本田律生¹⁾、大場 隆¹⁾、田
代浩徳²⁾、片淵秀隆¹⁾

第 56 回日本癌治療学会学術集会 (2018 年 10 月 18 日 ~ 20 日 : 横浜市)
ASCO/ECCO/JSCO Joint Symposium Multidisciplinary Case Discussion Session
Advanced Gynecological Cancer
Clinical comparisons of treatment strategies for advanced endometrial cancer in different
countries
Isao Sakaguchi

第 70 回日本産科婦人科学会学術講演会 (2018 年 5 月 10 ~ 13 日 : 宮城県仙台市)
熊本地震が周産期医療に与えた影響 -災害から何を学んだのか-
坂口 勲

〔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 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：田代 浩徳

ローマ字氏名：TASHIRO HIRONORI

所属研究機関名：熊本大学大学院生命科学研究部

部局名：母子看護学

職名：教授

研究者番号(8桁)：70304996

研究分担者氏名：片淵 秀隆

ローマ字氏名：KATABUCHI HIDETAKA

所属研究機関名：熊本大学大学院生命科学研究部

部局名：産科婦人科

職名：教授

研究者番号(8桁)：90224451

(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。