

令和元年6月1日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11153

研究課題名(和文) 婦人科悪性腫瘍の薬物応答に関する新規バイオマーカーの特定

研究課題名(英文) Identification of novel biomarkers involved in drug response of gynecologic cancer

研究代表者

山上 亘 (Yamagami, Wataru)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・専任講師

研究者番号：30348718

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)：卵巣癌のうち、漿液性癌、類内膜癌ではFGF3, FGF4コピー数増幅が少数ながら認められ、分子標的薬ソラフェニブの効果期待できる可能性が示唆されたが、明細胞癌では殆ど認められなかった。卵巣癌に対するソラフェニブは本邦では臨床投与は殆どなされておらず、少数例の薬剤感受性試験においてはソラフェニブ感受性症例はなく、上記について臨床的には実証されていない。子宮体癌や子宮頸癌ではFGF3, FGF4コピー数増幅を認めた症例は少なく、細胞株ではコピー数増幅は認められないことから、ソラフェニブが有効な症例は殆どないが、少なくともFGF3, FGF4コピー数増幅での効果予測に限界があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、婦人科悪性腫瘍に対する分子標的治療薬ソラフェニブの効果予測にFGF3, FGF4コピー数増幅が有用である可能性が示唆されたが、ごく少数例の研究であり、臨床的には効果が実証されておらず、学術的意義は限定的と考えられる。

これが実証されれば、婦人科悪性腫瘍への個別化医療の1つの手段となり、高額な分子標的治療薬の有効利用につながり、社会的意義も大きいと思うが、今後も検討が必要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Among ovarian cancer, some patients with serous carcinoma and endometrioid carcinoma had the FGF3 and FGF4 copy number amplification, and it is suggested that the effect of molecular target therapy with sorafenib could be effective for them. However, most patients with clear cell carcinoma had no amplification of FGF3 and FGF4 copy number. Sorafenib is not used clinically for patients with ovarian cancer in Japan. Since there were no sorafenib-sensitive cases in drug sensitivity tests conducted in several cases, no clinical demonstration has been made on the above so far.

There were few patients with endometrial cancer and cervical cancer who had the FGF3 and FGF4 copy number amplification, and no copy number amplification was observed in endometrial and cervical cancer cell lines.

Therefore, it was suggested that there were few cases where sorafenib was effective, or at least there was a limit to the prediction of the effect using FGF3 and FGF4 copy number amplification.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：コピー数解析 卵巣癌 子宮体癌 子宮頸癌 薬剤感受性試験

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

1. 研究開始当初の背景

進行・再発婦人科悪性腫瘍は依然として、治療に難渋することが多く予後不良である。一般的に進行再発癌への治療選択は全身療法が中心となり、婦人科領域は殺細胞性抗腫瘍薬を用いた化学療法が主に施行されているが、不応症例も散見される。今後の治療方針決定の方向性としては、症例ごとに効果予測を行い、患者の特性に応じた治療を選択するのが望ましい。しかしながら、殺細胞性抗腫瘍薬の効果は限定的であるため、近年分子標的治療薬に注目が集まっている。VEGF への抗体薬である Bevacizumab は卵巣癌に対し本邦で保険適応となり、また臨床試験においては子宮頸癌や子宮体癌に対する効果も期待されている。それ以外の分子標的治療薬については、子宮体癌では Erlotinib ,Bevacizumab ,Temsirolimus ,Everolimus ,Ridaforolimus ,Sorafenib などが効果の期待できる薬剤で、それぞれの phase II study での clinical benefit rate(CBR, CR+PR+SD)は 57% ,54% ,51-89% ,44% ,28% ,48%と報告されており、卵巣癌では Crediranib, Sorafenib, Sunitinib, Temsirolimus, everolimus, olaparib などが効果が期待できる薬剤で、それぞれの CBR は、77%, 30%, 38%, 56%, 50% ,67%と報告されている。特にマルチターゲット型阻害剤である Sorafenib (ソラフェニブ) , Sunitinib は腎癌で保険承認されており、腎癌は生物学的に婦人科癌に類似していることから有望な薬剤と期待されている。分子標的治療薬の毒性や効果は、がん細胞の分子プロファイルに関与することが知られている。たとえば Gefitinib は *EGFR* 遺伝子体細胞変異が効果や毒性に密接に関連することが報告されている。我々は、すでに肝細胞癌において *FGF3/FGF4* の増幅が Sorafenib の効果と相関することを確認し特許も取得している (Hepatology, 2012) 。すなわち同部の増幅の有無を解析する事で、Sorafenib に対して hypersensitivity を有する症例を抽出できる。我々のグループは同法を用いて、すでに卵巣癌の臨床検体で解析を行い、本法が婦人科癌でも実施可能な方法であることを確認している(図1)。

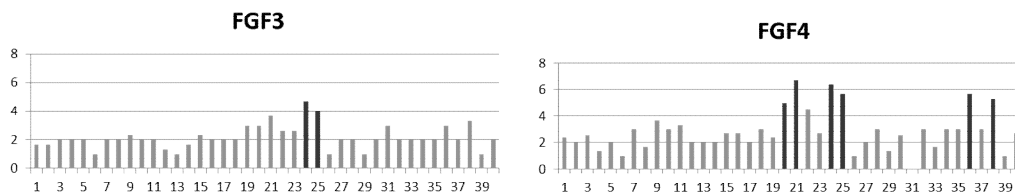


図1 卵巣漿液性腺癌で約 15%にも FGF3/FGF4 の増幅症例が認められた

2. 研究の目的

進行・再発婦人科悪性腫瘍の治療は化学療法が主体となるが、その効果は限定的であり、分子標的治療薬を含めた新規治療法の開発が期待されている。近年、婦人科悪性腫瘍に対する分子標的薬の臨床試験が開始されており一定の効果が報告されているものの、分子標的治療薬単独投与の効果は低い。そこで本研究ではヒト試料を用いて婦人科悪性腫瘍に対して有効性が期待されている分子標的薬の関連経路の異常を探索し、分子標的薬の効果を予測しうる有用なバイオマーカーを同定することで、遺伝子情報に応じた個別化治療に結びつけることを目的とした。本研究の成果により、治療前に効果予測が可能となることによる患者および医療経済上の負担の軽減、適切な治療の選択による治療成績の向上および患者の QOL の維持が期待される。

3. 研究の方法

- (1) 婦人科悪性腫瘍(卵巣癌, 子宮体癌, 子宮頸癌)の臨床検体や細胞株から DNA を抽出し、分子標的治療薬のターゲット候補遺伝子のコピー数異常や変異について解析を行う
- (2) TMA を用いて FGF3/FGF4 コピー数とトランスクリプトおよびタンパク発現との関連に関する検討を行う
- (3) ターゲット候補遺伝子の遺伝子変異を次世代シーケンスにて解析する
- (4) 卵巣癌細胞株を用いて FGF3/FGF4 コピー数と Sorafenib に対する薬剤感受性に関する検討を行う。また、FGF3/FGF4 強制発現株および発現抑制細胞を作成し、薬剤感受性の変化を解析する

(5) 臨床検体を用い、CD-DST (collagen gel droplet embedded culture-drug sensitivity test) 法を用いた薬剤感受性試験を行う

4. 研究成果

(1) 卵巣癌症例のコピー数解析

卵巣癌症例 123 例の臨床情報は以下の通りであり、手術進行期 (FIGO1988) は I 期 25%、II 期 22%、III 期 43%、IV 期 10% で、組織型は漿液性癌 45%、類内膜癌 34%、明細胞癌 21% であった。解析可能であった 85 例のうち、コピー数解析で FGF3 遺伝子の増幅が 6 例、FGF4 遺伝子の増幅が 10 例、PIK3CA 遺伝子の増幅が 12 例で認められた。FGF3, FGF4 遺伝子に着目すると、FGF3 は I, II 期で 6%、III, IV 期で 8%、FGF4 はそれぞれ 12%、12% に増幅が認められ、進行期による有意差を認めなかった。一方、FGF3 は漿液性癌が 5%、類内膜癌が 12%、明細胞癌が 6%、FGF4 はそれぞれ 14%、0%、16% に増幅が認められたことから、明細胞癌ではコピー数増幅が少ない傾向であることが示唆された。

(2) 子宮体癌症例のコピー数解析

子宮体癌症例 54 例の臨床情報は以下の通りであり、手術進行期 (FIGO1988) は I 期 70%、II 期 2%、III 期 28% で、組織型は類内膜癌 G1 が 43%、G2 が 46%、G3 が 11% であった。解析可能だった 24 例のうち、コピー数増幅解析で FGF3 遺伝子増幅が 1 例、FGF4 遺伝子増幅が 0 例認められた。一方で、PIK3CA 遺伝子減少が 8 例で認められた。卵巣癌症例に比して FGF3, FGF4 遺伝子増幅症例は乏しく、FGF3 遺伝子増幅例は I 期類内膜癌 G2 症例であった。一方、PIK3CA 遺伝子減少は I, II 期で 23%、III 期 38%、類内膜癌 G1 で 22%、G2 で 42%、G3 で 33% それぞれ認められており、進行期や組織型、予後などに有意な傾向は認められなかった。

(3) 子宮頸癌症例のコピー数解析

子宮頸癌症例 50 例について臨床情報を調べ当該症例の手術摘出標本の HE 染色検体の抽出を試みたが、子宮頸癌は III 期、IV 期症例は標準治療として同時化学放射線療法が選択されることがほとんどであり、また II 期においてもその傾向にある。術前の生検標本からの DNA 抽出も検討したが組織量に乏しく、解析に十分な DNA 量の確保は困難であった。子宮頸癌の癌部の DNA をより効率よく抽出する方法を検討していたが、そのうちに、子宮体癌症例、細胞株および子宮頸癌細胞株のコピー数解析の結果が判明し、卵巣癌のような結果が認められないことがわかったため、子宮頸癌症例の解析は中止した。

(4) 子宮体癌細胞株、子宮頸癌細胞株のコピー数解析

子宮体癌細胞株として、HHUA, HEC1A, SNG-M, HOOUA, HEC-108, ISHIKAWA 細胞株を、子宮頸癌細胞株として、Hela, SKG1, SKG2, SKG3a, SKG3b 細胞株を用いて DNA を抽出し、コピー数解析を行った。FGF3, FGF4 のコピー数増幅を認める細胞株は認められなかった。卵巣癌を含め 25 細胞株のうち、FGF3, FGF4 コピー数増幅を認めた細胞株は卵巣癌細胞株の ES2 のみであった (図 2)。

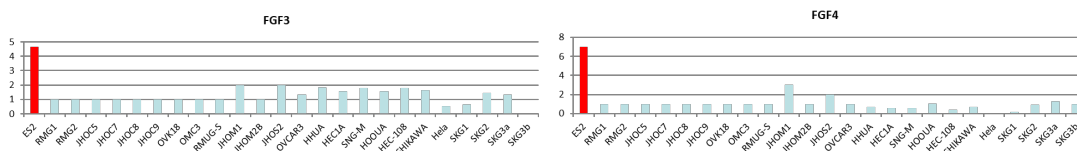


図 2 婦人科悪性腫瘍細胞株では ES2 のみ FGF3, FGF4 のコピー数増幅を認めた。

(5) 卵巣癌症例の Sorafenib の薬剤感受性試験

先行研究で、FGF3, FGF4 コピー数増幅細胞株では Sorafenib の IC50 が有意に低下することを示しているが、婦人科悪性腫瘍では Sorafenib は保険適用がないため、臨床では殆ど用いら

れていない。当院で卵巣癌と診断され、初回手術時に腫瘍組織または癌性腹水より初代培養が可能であった症例から、7例において卵巣癌オルガノイドの樹立が可能であった。うち、6例で Sorafenib を含む薬剤感受性試験を施行したが、全例で Sorafenib 抵抗性であった。今後、Sorafenib 感受性症例が認められた時点で、抵抗性症例も含めて FGF3, FGF4 コピー数解析を施行する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

(1) Yamagami W, Kataoka F, Hirano T, Sakai K, Makabe T, Chiyoda T, Nomura H, Hirasawa A, Tsuda H, Nishio K, Aoki D. The relationship between the copy number amplification of FGF3/FGF4 and the efficacy of sorafenib in gynecologic cancer . 17th Biennial meeting of the International Gynecologic Cancer Society, 2018

(2) Yamagami W, Kataoka F, Sakai K, Makabe T, Ninomiya T, Nomura H, Hirasawa A, Tsuda H, Nishio K, Aoki D. The usefulness of copy number amplification of FGF3/FGF4 for predicting the efficacy of targeted therapeutic agents for ovarian cancer . The 20th International meeting of the European Society of Gynaecological Oncology, 2017

〔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〕

該当なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：西尾 和人

ローマ字氏名：NISHIO, Kazuto

所属研究機関名：近畿大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 10208134

(2)研究協力者

研究協力者氏名：片岡 史夫

ローマ字氏名：KATAOKA, Fumio

研究協力者氏名：赤羽 智子

ローマ字氏名：AKABANE, Tomoko

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。