

平成21年 4月30日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18591831
 研究課題名（和文） 子宮体癌の新規予後規定分子IDOの同定・機能解析に基づくオーダーメイド治療の開発
 研究課題名（英文） Functional role of IDO, a novel prognostic marker for endometrial cancer, and development of the tailor-made IDO-targeted therapy
 研究代表者
 井篁 一彦 (INO KAZUHIKO)
 名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：60303640

研究成果の概要：トリプトファン代謝酵素であるIDOは免疫抑制作用を有し、癌の宿主に対する免疫寛容に関与する。本研究では子宮体癌におけるIDOの発現とその意義について検討し以下の知見を得た。(1) IDOは子宮体癌の予後を規定する分子マーカーである。(2) IDOは局所腫瘍浸潤リンパ球を抑制する。(3) IDOを過剰発現した子宮体癌細胞は、マウスモデルにおいて腫瘍増殖が促進されるが、IDO阻害剤投与によりその増殖は抑制される。以上よりIDOは子宮体癌における新たな標的治療のターゲットとなる可能性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,700,000	0	1,700,000
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：子宮体癌、酵素、免疫寛容、リンパ球、NK細胞、標的治療、免疫療法

1. 研究開始当初の背景

(1) 子宮体癌は early stage 症例が全体の70%以上を占めることから、比較的予後良好の癌と認識されている。しかしながら腹腔内播種やリンパ節・遠隔転移を伴う advanced stage 症例や再発症例の予後はいぜんとして不良である。従ってさらなる予後改善のためには、従来の臨床病理学的予後因子に加えて、子宮体癌の悪性度を反映

する新規の予後規定分子マーカーを同定し、それらをターゲットとする標的治療やオーダーメイド治療が求められている。

(2) Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) は、必須アミノ酸であるトリプトファンをキヌレニンへと代謝させる酵素であり、妊娠初期胎盤に発現し母体T細胞やNK細胞を抑制して母児間の免疫寛容機構に関与する。

最近、悪性腫瘍においても IDO が発現し、癌が宿主免疫機構から免れて増殖・進展するメカニズムに関与することがマウス腫瘍モデルで報告された。しかしながらヒト固形癌における IDO の分子レベルにおける機能解析および臨床的意義について詳細に検討した研究はこれまでにない。

2. 研究の目的

(1) 子宮体癌組織において IDO が発現しているか、またその発現の差異が子宮体癌の進展に相関し患者の予後規定分子になり得るかどうかを、手術検体を用いて解析する。

(2) IDO がヒト癌の宿主免疫監視機構からの回避（免疫寛容）を引き起こすメカニズムを解明するため、子宮体癌に発現する IDO の機能的役割を分子レベルで解析する。

(3) IDO をターゲットとした標的治療の臨床応用に向けての基盤の確立のため、IDO 阻害剤の *in vivo* における治療効果および抗癌剤との併用効果をマウス移植腫瘍モデルにおいて解析する。

3. 研究の方法

(1) 子宮体癌手術検体80例を用いて、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより腫瘍組織切片を作成し、IDOの免疫組織染色を施行した。IDO発現をスコア化して臨床病学的因子や患者予後との相関につき解析した。また同一切片を用いてCD3 (Pan-T)、CD8 (CTL)、CD57 (NK) の免疫組織染色を行い、腫瘍浸潤リンパ球の個数をカウントし、IDO発現との関連を検討した。

(2) IDO 過剰発現子宮体癌細胞株の作成：

ヒト IDO 遺伝子ベクターを子宮体癌細胞株 AMEC にトランスフェクションし、複数のシングルクローンを採取、IDO の発現量をウェスタンブロットおよび酵素活性で確認した。得られた IDO 過剰発現株の *in vitro* における増殖能、浸潤能、抗癌剤感受性を親株およびコントロールベクター導入株と比較検討した。

(3) マウス xenograft モデルにおける IDO の腫瘍免疫寛容機構への関与：IDO 過剰発現株およびコントロールベクター導入株をそれぞれ BALB-c ノードマウスに皮下移植し、腫瘍容積を経時的に計測した。また day28 における摘出腫瘍の組織学的検討およびマウス脾細胞中の NK 細胞数と NK lysis 活性を計測した。さらにこの系において、IDO 阻害剤である

1-MT を単独で連日経口投与または抗癌剤タキソール（週 1 回腹腔内投与）を併用投与した際の腫瘍重量およびマウスの生存期間を解析した。

4. 研究成果

(1) 子宮体癌 80 例において腫瘍細胞に発現する IDO の高発現は病期の進行や不良な予後と相関し、IDO は子宮体癌における独立した予後因子となった（図 1）。

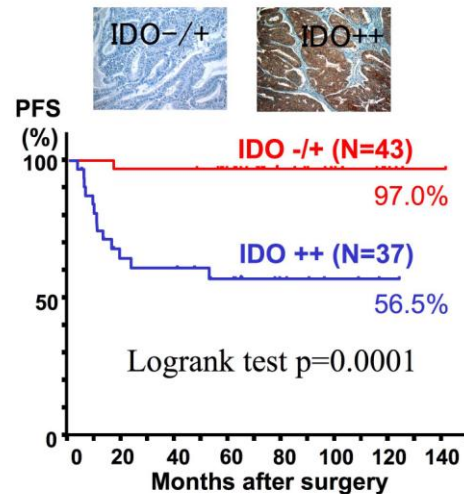


図1 IDOは子宮体癌の予後不良因子になる

(2) 子宮体癌組織において IDO 発現量は腫瘍内浸潤 CD3+T 細胞、CD8+T 細胞および NK 細胞のカウント数と逆相関し、IDO は免疫細胞局所浸潤を抑制した。

(3) IDO cDNA を子宮体癌細胞に導入したヒト IDO 過剰発現癌細胞の stable clone の樹立に世界で初めて成功した（図 2）。

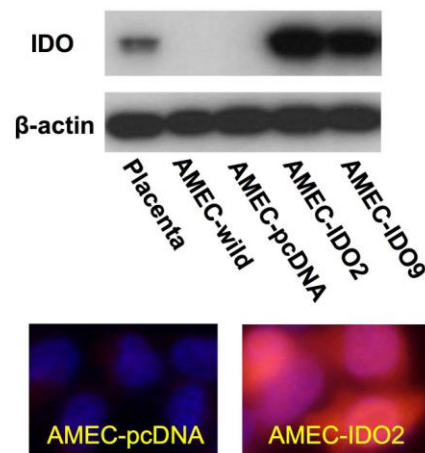


図2 IDO過剰発現子宮体癌細胞株確立

(4) この IDO 過剰発現株は *in vitro* 増殖能・遊走能・抗癌剤感受性は対照株と有意差を認めないが、ヌードマウス皮下移植モデルにおける腫瘍増殖は著明に亢進し、マウスの NK 細胞数と NK lysis 活性は抑制された(図 3)。

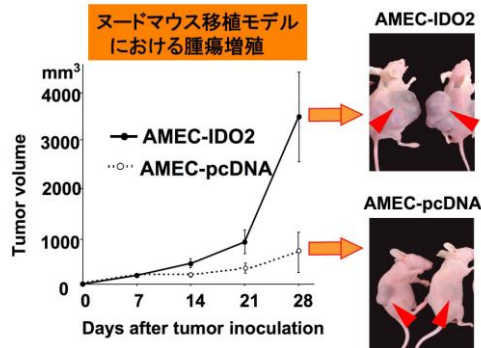


図3 IDO過剰発現により移植腫瘍増殖は促進される

(5) 上記マウスにおいて、IDO 阻害剤である 1-MT の経口投与と抗癌剤併用により、抗癌剤単独時に比較して有意な腫瘍重量減少とマウス生存期間の有意な延長を認めた。

(6) 以上より我々は子宮体癌細胞に発現する IDO が腫瘍局所の免疫寛容形成における重要分子であり、これをターゲットとする標的治療と化学療法との併用の有効性がヒト癌においても期待できることを確認できた。今後の研究ではさらに婦人科癌の IDO を中心とした局所免疫寛容ネットワークの全貌を明らかにし、新規免疫化学療法の確立を目指していくものである。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

(1) Yoshida N, Ino K, et al. (他 10 名, 2 番目) (2008) Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human endometrial carcinoma cells induces rapid tumor growth in a mouse xenograft model. *Clin Cancer Res* 14: 7251-7259.

(2) Ino K, Yamamoto E, et al. (他 8 名, 1 番目) (2008). Inverse correlation between tumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression and tumor-infiltrating lymphocytes in endometrial cancer: Its association with disease progression and survival. *Clin Cancer Res* 14: 2310-2317.

(3) Shibata K, Kajiyama H, Ino K, et al. (他 6 名, 3 番目) (2008). Twist expression in patients with cervical cancer is

associated with poor disease outcome. *Ann Oncol* 19: 81-85.

(4) Kajiyama H, Ino K, et al. (他 4 名, 4 番目) (2008). Involvement of SDF-1 α /CXCR4 axis in the enhanced peritoneal metastasis of epithelial ovarian carcinoma. *Int J Cancer* 122: 91-99.

(5) Yamamoto E, Ino K, et al. (他 9 名, 1 番目) (2008).

N-acetylglucosaminyltransferase V regulates extravillous trophoblast invasion through glycosylation of $\alpha 5 \beta 1$ integrin. *Endocrinology* 150: 990-999.

(6) 井篁一彦. 子宮体癌における新規予後規定分子 IDO の発現とその意義: 腫瘍浸潤リンパ球抑制による免疫寛容誘導. 日本婦人科腫瘍学会雑誌 26: 125-129, 2008

(7) Yamamoto E, Ino K, et al. (他 8 名, 1 番目) (2007). Expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in endometrial cancer correlates with poor prognosis. *Br J Cancer* 97: 1538-1544.

(8) Ino K, Yoshida N, Kajiyama H, et al. (他 10 名, 1 番目) (2006). Indoleamine 2,3-dioxygenase is a novel prognostic indicator for endometrial cancer. *Br J Cancer* 95: 1555-1561.

(9) Ino K, Shibata K, et al. (他 4 名, 1 番目) (2006). Manipulating the angiotensin system--new approaches to the treatment of solid tumours. *Expert Opin Biol Ther* 6: 243-255.

(10) Ino K, Shibata K, et al. (他 6 名, 1 番目) (2006). Angiotensin II type 1 receptor expression in ovarian cancer and its correlation with tumor angiogenesis and patient survival. *Br J Cancer* 94: 552-560.

上記の論文 10 編は全て査読有り。

[学会発表] (計 7 件)

(1) Ino K, Role of the immunosuppressive enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in the progression of ovarian carcinoma and its targeted therapy. Global Center of Excellence (COE) program 1st International Symposium. Nagoya, January 23, 2009.

(2) Ino K, Expression of the immunoregulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in human normal and

malignant invasive trophoblastic cells.
14th IFPA Meeting 2008, Graz, Austria,
September 10-13, 2008.

(3) 井篁一彦. 子宮体癌における免疫抑制酵素 Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)の機能解析と新たな分子標的治療の開発. 第44回日本婦人科腫瘍学会, 名古屋, 2008年7月18日.

(4) 井篁一彦. 子宮体癌における新規予後規定分子 IDO の発現とその意義: 腫瘍浸潤リンパ球抑制による免疫寛容誘導. 第42回日本婦人科腫瘍学会, 東京, 2007年6月30日.

(5) 井篁一彦. 子宮体癌の新規予後規定分子 Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)は腫瘍浸潤リンパ球の抑制による局所免疫寛容を誘導して腫瘍進展に関与する. 第59回日本産科婦人科学会, 京都, 2007年4月16日.

(6) 井篁一彦. 子宮体癌における新たな予後規定分子 Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)の発現とその意義. 第44回日本癌治療学会, 東京, 2006年10月19日.

(7) Ino K, Dual induction of indoleamine 2,3-dioxygenase and HLA-G by interferon-gamma in human extravillous trophoblasts: its implication in tolerance at the fetal-maternal interface. 12th IFPA Meeting 2006, Kobe, Japan, September 6-9, 2006.

〔図書〕(計2件)

(1) Ino K, Kikkawa F (2008). Indoleamine 2,3-dioxygenase. In: Schwab M (ed), Encyclopedia of Cancer, 2nd edition. pp 1513-1516 Springer Science, Heidelberg.

(2) 井篁一彦, 吉川史隆 (2008). 5. 絨毛性疾患 in 『婦人科がん標準化学療法の実際』(宇田川康博、八重樫伸生編), 金原出版, 東京, pp 135-144.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井篁 一彦 (INO KAZUHIKO)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 60303640

(2) 研究分担者

平成19年度、20年度の分担者
山本 英子 (YAMAMOTO EIKO)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 10432262

平成18年度の分担者

野村 誠二 (NOMURA SEIJI)
名古屋大学・大学院医学系研究科・助教授
研究者番号: 20242860