

令和 4 年 9 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K24054

研究課題名（和文）卵巣癌腹腔内播種の新規治療戦略：腹腔内免疫抑制メカニズムの解明と臨床応用

研究課題名（英文）Development of a novel therapeutic strategy for intraperitoneal dissemination of ovarian cancer

研究代表者

植野 さやか（Ueno, Sayaka）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・訪問研究員

研究者番号：80848937

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は先行研究で、卵巣癌の腹腔内播種に寄与する因子としてPEDFを同定した。本研究ではマウスモデルを用いて、「PEDFは腹腔内に免疫抑制性マクロファージを誘導し、腹腔内でのがん細胞の生存を促進し、腹腔内播種を増加させる」という機序を解明した。卵巣癌患者では、腹水及び血清中PEDFが高値であり、特に転移巣でPEDFの発現が亢進していた。PEDF高値と2年以内の再発率は有意に関連し、再発予測マーカーとなりうる。PEDFの発現を制御する薬剤としてBET阻害剤を同定し、マウスモデルで薬剤効果を検証した。腹腔内がん細胞の生存を抑制することが確認でき、今後さらに薬剤投与条件の最適化を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で、卵巣がんの腹腔内播種に関わる新たな因子であるPEDFを同定することができた。また、PEDFの発現制御メカニズムが明らかになったことで、卵巣がん播種の治療に効果が見込まれる薬剤を同定することができた。さらにPEDFが再発予測マーカーとして臨床応用できる可能性を示唆する結果が得られた。これらの知見は、今後の卵巣がん治療開発に利用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）： We identified pigment epithelium-derived factor (PEDF) as a promoting factor of OC dissemination. PEDF functions through induction of CD206-positive IL-10-producing macrophages. High PEDF expression in tumors was associated with shorter overall survival and disease-free survival in OC patients. Concentrations of PEDF in ascites and serum were significantly higher in OC patients than those with more benign tumors and correlated with recurrence within 2 years. These data suggest that PEDF might serve as a prognostic biomarker. Bromodomain and extraterminal (BET) inhibitors reduce PEDF expression and limit both OC cell survival and CD206positive macrophage induction in the peritoneal cavity. Together, we identified PEDF as a driver of OC dissemination, and a BET protein-PEDF-IL-10 axis as a promising therapeutic target for OC.

研究分野：卵巣癌

キーワード：卵巣癌 腹腔内免疫 転移 再発 BET阻害剤 腹腔内マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌の5年生存率は50%以下であり、根治は非常に困難である。その理由としては以下の2つが挙げられる。早期からがん細胞が腹腔内で播種し、手術では完全には除去できない。化学療法と手術を組み合わせた集学的治療が奏功しても、微小な腹腔内播種が残存し、治療後に再発する。つまり、卵巣癌の治療成績を向上させるためには、腹腔内播種をいかに制御するかという課題を解明する必要がある。我々は卵巣癌マウスモデルを用いた先行研究を行い、卵巣癌の腹腔内播種に寄与する因子として PEDF (Pigment Epithelium-derived factor: 色素上皮由来因子) を同定していた。PEDF は網膜色素上皮が分泌するタンパクとして発見され、種々の作用を有する事が報告されてきた。がん領域においては、がん抑制性の作用とがん促進性の作用の両方が報告されており、がん種あるいはがんの進行期によっても PEDF の機能が異なることが予測された。PEDF のヒト卵巣癌における機能は明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は2つである。ヒト卵巣癌における PEDF の機能を検証し、新規バイオマーカーとしての有用性を検討すること、PEDF の発現制御機構を明らかにし、治療薬の探索を行い、マウスモデルを用いて薬剤の効果を検証すること、である。

3. 研究の方法

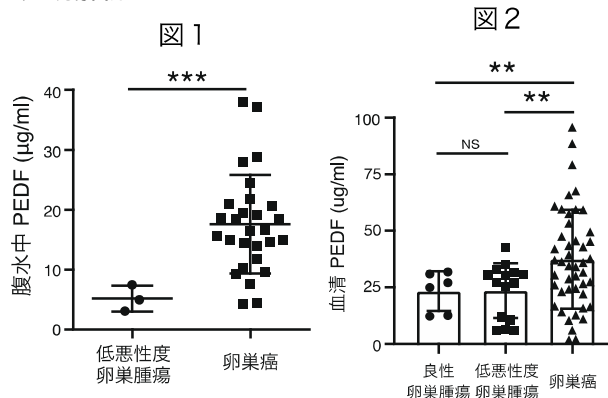
まず、ヒト卵巣癌における PEDF の機能を明らかにするために、ヒト検体における PEDF の発現解析を行った。PEDF は分泌タンパクであることから、腹水中あるいは血清中に分泌されていると予想された。検体は、兵庫県立がんセンターバイオバンクに保管されている腹水検体及び血清検体を用いた。次に、検体の臨床情報と PEDF 値の相関を検討した。さらに、公共データベースを用いて、ヒト卵巣癌における PEDF の発現と臨床進行期・全生存期間・無再発生存期間との相関を検討した。最後にヒト卵巣癌の原発巣と腹腔内播種巣での PEDF 発現を比較した。

正常卵巣表層上皮細胞および転移能に差がある卵巣癌細胞を用いて、PEDF の発現を検証した。さらに公共データベースを用いて、卵巣癌において PEDF の発現と相関を示す分子の絞り込みを行い、候補分子を同定した。同定した分子に対する阻害剤の効果は、in vitro、in vivo 双方で検証を行った。

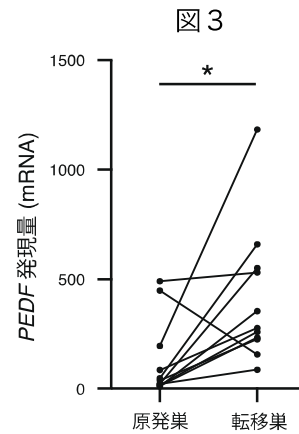
4. 研究成果

卵巣がん患者の腹水中及び血中 PEDF 発現解析

まず腹水中の PEDF の発現量の解析を行った。卵巣癌患者では、低悪性度卵巣腫瘍の患者に比較して、腹水中の PEDF 濃度が有意に高値であった(図1)。また、血中の PEDF 濃度も同様に、良性卵巣腫瘍あるいは低悪性度卵巣腫瘍の患者に比較して、卵巣癌患者で高値を示した(図2)。さらに、検体の臨床情報と PEDF 値の相関を検討し、2年以内の再発率と PEDF 値が相関していることを見出した。

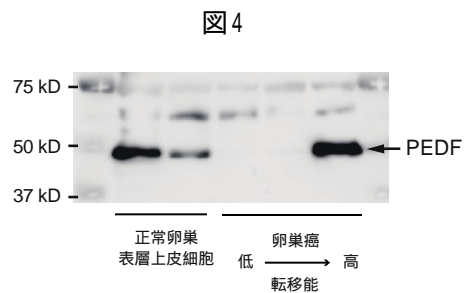


ヒト卵巣がんにおける PEDF 発現と臨床所見との関連性解析
TCGA データベースを用いた解析を行い、がん組織中の PEDF 発現量が少ない患者群では、発現量の多い群に比較して、全生存期間・無増悪生存期間ともに有意に延長しているとの結果を得た。さらに、同一患者の卵巣がん原発巣と転移巣での RNA-sequence データ(公共データベースより入手)を比較し、転移巣で有意に PEDF 発現量が増加しているとの結果を得た(図3)。



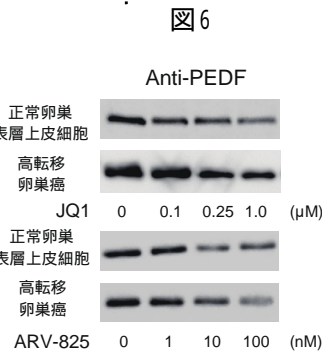
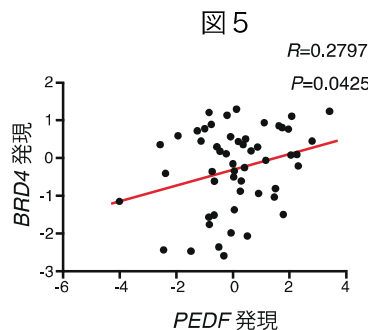
PEDF の発現制御機構の解明と阻害剤の同定
マウス卵巣がん細胞株を用いて、マウス腹腔内播種を繰り返すことにより、播種能力が異なる2つの細胞株を作成した。

正常卵巣上皮細胞株およびこれらの卵巣がん細胞株における PEDF タンパク発現量を解析した。正常卵巣上皮細胞では PEDF が発現しているが、卵巣がん細胞では PEDF が低発現となり、転移能を獲得するにつれて再度 PEDF の発現が回復していた(図4)。この結果から、PEDF の発現は、エピジェネティックに制御されている可能性が示唆された。



次に、卵巣がん組織を用いた解析データから、PEDF の発現量と相関を示す転写制御因子として、BET ファミリータンパク質である BRD4 を同定した(図5)。

BET 阻害剤である JQ1、及び BET 分解誘導剤である ARV825 がともに、濃度依存的に PEDF の発現量を減少させることを確認した(図6)。最後に卵巣がんマウスモデルに ARV825 を投与し、腹腔内播種を減少させる傾向があるとのデータが得られた。



本研究により得られた知見は以下の4点である。 卵巣がんの播種に関わる新規因子として PEDF を同定、 卵巣がんの再発予測バイオマーカーとして、血中及び腹水中 PEDF 値を同定、 PEDF の発現制御機構の解明、 卵巣がん播種を抑制する新規薬剤として BET 阻害剤を同定。 今後さらに、BET 阻害剤の至適投与経路および投与量を明らかにし、卵巣がんにおける臨床応用を目指したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Sugihara Eiji, Hashimoto Norisato, Osuka Satoru, Shimizu Takatsune, Ueno Sayaka, Okazaki Shogo, Yaguchi Tomonori, Kawakami Yutaka, Kosaki Kenjiro, Sato Taka-Aki, Okamoto Shinichiro, Saya Hideyuki | 4. 巻 80 |
| 2. 論文標題 The Inhibitor of Apoptosis Protein Livin Confers Resistance to Fas-Mediated Immune Cytotoxicity in Refractory Lymphoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Research | 6. 最初と最後の頁 4439 ~ 4450 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/0008-5472.CAN-19-3993 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 植野さやか 須藤保 佐谷秀行 杉原英志 |
| 2. 発表標題 PEDF promotes tumor dissemination and serves as a biomarker to predict immune microenvironment in the peritoneal cavity |
| 3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|