

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09661

研究課題名（和文）卵巣癌におけるPin1阻害による新規治療戦略

研究課題名（英文）Novel Therapeutic Strategies with Pin1 Inhibition in Ovarian Cancer

研究代表者

平川 隆史（Hirakawa, Takashi）

群馬大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：80375534

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：Pin1は卵巣癌腫瘍組織に発現しており、漿液性癌および卵巣外病変を持つ腫瘍において発現強度が高く、非漿液性癌においてはPin1発現は独立した予後規定因子となる。培養細胞においてPin1の機能抑制は抗腫瘍効果を発揮するためPin1阻害は卵巣癌の治療標的になりうると予想される。ドラッグディポジショニングによる低用量抑制の可能性を評価するため培養細胞を用いて候補薬をスクリーニングしたが、有効な組み合わせは検出されなかった。

Pin1による抗腫瘍効果のメカニズムを探るため、Pin1関連タンパク質の腫瘍組織における発現を免疫染色で評価したが、Pin1発現と関連する関連タンパク質は検出されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プラチナ抵抗性再発卵巣癌に対する薬物療法は抗がん剤±血管新生阻害剤の組み合わせが標準治療であるが効果が限定的であることに加え、特有の有害事象や医療経済への圧迫が課題である。抗腫瘍効果を持ちつつ有害反応が少ない薬物療法の選択肢があれば、患者のニーズに合致するものと思われる。近年、既存薬を別疾患の治療に流用することで、薬剤開発の経費削減や安全性検証のステップを簡略化するドラッグ・リポジショニングが積極的に進められている。本研究では本領域においてPin1阻害剤と他の薬剤を併用することで卵巣癌治療への新規治療戦略を確立することを目指したが、有効な組み合わせは見出されなかった。

研究成果の概要（英文）：Pin1 is expressed in ovarian cancer tissue, with higher expression in serous carcinomas and tumors with extra-ovarian lesions, and Pin1 expression is an independent prognostic factor in non-serous carcinomas. Inhibition of Pin1 function in cultured cells exerts an antitumor effect, making Pin1 inhibition a potential therapeutic target for ovarian cancer. Candidate drugs were screened in cultured cells to evaluate the possibility of low-dose inhibition by drug disposition, but no effective combinations were detected.

To explore the mechanism of the anti-tumor effect of Pin1, the expression of Pin1-related proteins in tumor tissues was evaluated by immunostaining, but no relevant proteins associated with Pin1 expression were detected.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣癌 Pin1 ドラッグリポジショニング

1. 研究開始当初の背景

プラチナ抵抗性再発卵巣癌に対する薬物療法は単剤化学療法±ペバシズマブでの治療が推奨されている。これらの治療の効果は限定的であり、最終的に原病の増悪による臓器障害あるいは全身状態が保たれていたとしてもレジメンを使い切ってしまうことでBSCに移行することになる。免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍効果が報告されており実地臨床で使用されるようになると見込まれたが、従来の抗癌剤とは異なる特異な有害事象の発生や高額な薬価による医療経済の圧迫など解決されるべき課題が多く、広く使用されるようになるには未だ障壁があると思われる。プラチナ抵抗性腫瘍に対して一定の抗腫瘍効果を持ちつつ有害反応が少ない薬物療法の選択肢があれば、治療継続を望む患者のニーズに合致するものと思われる。

近年、他領域で使用されている既存薬を別疾患の治療に流用することで、薬剤開発の経費削減や安全性検証のステップを簡略化するドラッグ・リポジショニングが積極的に進められている。卵巣癌においてはアロマトーゼ阻害薬や糖尿病治療薬、脂質代謝治療薬、抗炎症薬などで抗腫瘍効果を発揮する可能性が示されているが、これらは疫学研究での知見であり、臨床応用に至るには更なる実臨床でのデータ蓄積が求められている。

Pin1(Peptidyl-prolylis-transisomeraseNIMA-interacting1)はイソメラーゼの一つであり、リン酸化アミノ酸とそれに続くプロリンを標的配列とし、プロリンの立体構造を異性化することで標的タンパク質の活性化を制御する酵素である。細胞内シグナル伝達のカスケードを制御する因子としてはタンパク質のリン酸化が重要であるが、リン酸化のみでは全活性化が起こらず、立体構造の変化によって初めて全活性化される因子があることが知られており、Pin1による立体構造の変化は細胞内シグナル伝達に重要な要因と想定されている。

Pin1は腫瘍組織において発現が増強していることが種々の癌腫で報告されており、Pin1発現が発癌あるいは腫瘍の進展に関与することが示されている。さらにPin1の機能抑制によって抗腫瘍効果が得られるという知見も蓄積しつつあり、Pin1は悪性腫瘍の治療のターゲットになりうるということが期待されている。

Pin1阻害薬の一つ、EGCG(Epigallocatechingallate)は植物の中で特に緑茶に最も豊富に含まれるカテキンである。疫学研究においてお茶の摂取による発癌予防効果が古くから示されている、近年発表されたメタアナリシスにおいて、緑茶の摂取が卵巣癌の発症予防に寄与することが報告されている。EGCGを発癌予防だけでなく、発症した癌の治療に応用する検討もなされている。EGCGとPDE(phosphodiesterase)3または5の併用によってより強い殺細胞性効果が得られることが報告されており1)、悪性腫瘍の治療戦略の一助になることが期待されている。さらにEGCGは非小細胞肺癌細胞株においてPD-L1発現を抑制することが報告されており、免疫チェックポイント阻害剤と同様の作用機序で抗腫瘍効果を発揮する可能性も示されている2)。総じてPin1阻害剤は卵巣癌治療、特に全身状態の悪化やレジメンを使い切ってしまったことで化学療法の継続を断念した患者に対する代替治療の選択となる可能性を有すると考える。

2. 研究の目的

本研究では卵巣癌におけるPin1阻害剤による殺細胞性効果の作用メカニズムを検証するとともに、Pin1阻害薬と既存薬の併用による殺細胞性効果増強を検証することで、ドラッグ・リポジショニングによる新規治療戦略の可能性を探ることを第一の目的とした。さらにPin1阻害剤によって修飾されるシグナル伝達因子の臨床検体における発現状況と予後との相関を評価することで、新規の治療バイオマーカーを同定することを第二の目的とした。

3. 研究の方法

1)Pin1阻害剤の殺細胞効果を増強する因子のスクリーニング PDE阻害剤など薬物代謝を修飾する薬剤とPin1阻害剤を卵巣癌細胞株に共添加し、MTTアッセイで殺細胞効果を評価することで、Pin1阻害剤の殺細胞効果を増強する因子をスクリーニングした。卵巣癌細胞株はSKOV-3、OVCAR-3、KURAMOCHI、OVSAHO(漿液性癌由来)、MCAS(粘液性癌由来)、TOV-21G(明細胞癌由来)を使用した。Pin1阻害剤はEGCGあるいはJuglone、PDE阻害剤は非選択的薬剤、PDE3阻害薬、PDE5阻害薬を使用し、以後の実験に使用する組み合わせをスクリーニングした。

2)Pin1発現が関連タンパクの発現に影響するかを評価するため臨床検体を用いた免疫染色でp53、ARAD1A、ARID1B、HE4発現を評価し、発現の相関性を評価した。

3)Pin1発現が卵巣癌の再発形式、化学療法への反応性に影響を与えるかを評価するため、カルテ情報を後方視的に抽出し、Pin1発現との相関の有無を評価した。

4. 研究成果

(1)ヒト卵巣癌細胞株におけるPin1阻害剤の抗腫瘍効果

細胞株 6 種と Pin1 阻害剤 2 種の共添加による IC50 を算出した。OVSAHO は低濃度の Juglone の投与で細胞死が誘導され、IC50 は 7.26 μM であった。SKOV3 と EGCG の組み合わせでの IC50 は 5.93 μM であった。

(2) 卵巣癌腫瘍組織における Pin1 発現

Pin1 発現を低発現群と高発現群の 2 群で年齢、組織型(漿液性癌群、非漿液性癌群)、原発巣、FIGO 進行期、NAC の有無との関連性を評価したところ、組織型、FIGO 進行期の間に統計学的な有意差を確認した。すなわち漿液性癌及び卵巣外病変を有する腫瘍において Pin1 発現が増強する可能性が示唆された。

(3) Pin1 発現強度と臨床的予後との相関

Pin1 低発現群の 5 年生存率は 87%であったのに対し、高発現群では 69%であった。無増悪生存、全生存期間ともに統計学的な有意差を持って高発現群で期間が短縮することが示された。単変量解析で有意であった因子は臨床進行期と Pin1 発現強度であった。多変量解析で有意差が検出されたのは臨床進行期のみであった。

(4) 漿液性癌群と非漿液性癌群によるサブグループ解析

漿液性癌群と非漿液性癌群を分けて解析した。漿液性癌群での無増悪生存期間は Pin1 高発現、低発現群で有意差が検出されなかった。一方非漿液性癌群における無増悪生存期間は Pin1 高発現群において統計学的な有意差を持って期間が短縮することが示された。非漿液性癌群について単変量・多変量解析を行ったところ、単変量解析で有意であった因子は臨床進行期と Pin1 発現強度であり、多変量解析でも臨床進行期と Pin1 発現強度の 2 因子に有意差を認めた。

(5) Pin1 阻害剤の効果修飾因子のスクリーニング

Pin1 阻害剤の効果を増強する因子として PDE 阻害剤を含む因子をスクリーニングしたが、有用な因子は検出されなかった。

(6) Pin1 発現と関連する関連タンパク発現のスクリーニング

p53、ARAD1A、ARID1B、HE4 発現と PIN1 発現との相関を評価したが相関は確認されなかった。

(7) Pin1 発現と卵巣癌の再発形式の相関

Pin1 発現と再発形式との相関について後方視的な解析を行ったが、再発形式と Pin1 発現に明らかな相関を見出せなかった。

(8) Pin1 発現と化学療法への反応性の相関

化学療法レジメン毎の奏効率や治療持続期間などについても後方視的な解析を行ったが、Pin1 発現と化学療法薬による効果に関する相関は確認されず、Pin1 発現の評価が化学療法薬の選択には影響を与えない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Inoue N, Hirakawa T, Mitsushita J, Kitahara Y, Iwase A	4. 巻 2
2. 論文標題 Malignancies Associated with Extraovarian Endometriosis: A Literature Review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrines	6. 最初と最後の頁 251-265
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/endocrines2030024	査読の有無 有
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0件

〔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
研究分担者	小暮 佳代子 (Kogure Kayoko) (00782319)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教 (12301)	

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