

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592146

研究課題名（和文） 婦人科癌における新規パクリタキセル感受性遺伝子による
テーラーメイド医療の確立研究課題名（英文） Personalized medicine using newly identified paclitaxel-sensitive
genes in gynecologic cancer

研究代表者

井坂 恵一（ISAKA KEIICHI）

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：10201310

研究成果の概要（和文）：

Bub3、SEPT10、USP15という3種のパクリタキセル感受性分子の単離を行い、realtime RT-PCR法により卵巣がん61検体における発現量を調べた。これらはパクリタキセル耐性のがん検体において低い値を示した。特にSEPT10は、パクリタキセルの感受性が高いとされる漿液性腺癌で高発現であった。これら遺伝子の発現量を調べることによって、化学療法に対するテーラーメイド医療が可能となるかもしれない。また、パクリタキセルへ治療抵抗性を示す場合に、これらは分子標的治療の候補遺伝子となりうるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：

Paclitaxel is often used in clinic to treat gynecologic cancers. Nevertheless, some carcinomas such as breast cancer, ovarian cancer, and non-small cell lung cancer demonstrate resistance to paclitaxel treatment. We screened a lentiviral siRNA library against the entire human genomes to assess the ability of clones to influence the sensitivity of paclitaxel. We identified three paclitaxel-resistant clones, which were determined as targeting for septin 10 (SEPT10), ubiquitin-specific protease 15 (USP15) and budding uninhibited by benzimidazoles 3 (BUB3), respectively. We conducted the present study to investigate whether and how chemosensitivity can be determined by means of genetic diagnosis using these genes in patients with epithelial ovarian cancer. A total of 61 samples were obtained with informed consent from patients who had epithelial ovarian cancer and received first-line chemotherapy, consisting of paclitaxel and carboplatin (TC). The mRNA expression of SEPT10 and USP15 was measured by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. These expressions were showing a tendency to be higher in patients who did not respond to TC therapy. Also, SEPT10 expression was upregulated in serous type carcinoma compared with others. The present study suggests that genetic diagnosis by these genes may be useful to determine chemosensitivity in patients with epithelial ovarian cancer. Furthermore, these genes may candidate a novel cancer therapeutic method for paclitaxel-resistant cancers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床学・産婦人科学

キーワード：癌、遺伝子、薬学

1. 研究開始当初の背景

パクリタキセルは子宮体がんおよび卵巣がんに対して現在もっとも使用されている抗癌剤であるが、一方でパクリタキセルに抵抗性の腫瘍も存在する。我々は、5万遺伝子をカバーするゲノムワイド siRNA ライブラリーを用い、Bub3、SEPT10、USP15 という3種のパクリタキセル感受性分子の単離を行った。

2. 研究の目的

子宮体がんおよび卵巣がんにおけるこれら各遺伝子の発現を調べ、臨床経過と比較検討することを一つの目的とする。二つ目の目的は、これら遺伝子を導入することによってパクリタキセル耐性機構を解除する新規治療法を確立するための基礎研究を行うことである。最終的には、これら各遺伝子の発現をもとにパクリタキセル療法に関するテーラード医療の確立を目指している。

3. 研究の方法

(1)検体採取とパクリタキセル感受性遺伝子の発現解析

卵巣がんの検体を手術時等に採取する。術後療法にパクリタキセルを投与する検体のみから、レーザースキャニングマイクロディセクション法により、癌細胞のみを選別し mRNA を抽出する。realtime RT-PCR 法により、Bub3、SEPT10、USP15 の発現量を調べる。

(2)パクリタキセル耐性細胞株に対するパクリタキセル+パクリタキセル感受性遺伝子導入療法の基礎的研究

これら遺伝子の発現が低い場合はパクリタキセルに耐性であることが予想されるが、この耐性機構を解除できればパクリタキセルを投与可能となる。腫瘍細胞にこれら遺伝子を導入することによりこの耐性機構を解除できる可能性が高く、パクリタキセルとこ

れら遺伝子導入のコンビネーション療法がパクリタキセル耐性症例に有効と考えられる。このコンビネーション療法の有効性を基礎研究により検討するために、パクリタキセル耐性の卵巣癌細胞株にレトロウイルスベクターに組み込んだ Bub3、SEPT10 または USP15 を感染させ、培養液中にパクリタキセルを添加して抗腫瘍効果を検討する。検討内容としては、TUNNEL 法やフローサイトメトリーを用いたアネキシン V によるアポトーシスの検出、フローサイトメトリーによる細胞周期の解析、MTT アッセイなどによる細胞増殖能やコロニーフォメーションアッセイによるコロニー形成能の検討がある。

4. 研究成果

卵巣がんの検体から mRNA を抽出し、realtime RT-PCR 法により Bub3、SEPT10、USP15 の発現量の検討を行なった。これらの発現は、パクリタキセル耐性のがん検体において有意に低い値を示した。これら遺伝子の発現が低い場合はパクリタキセルに耐性であることが予想されるが、腫瘍細胞にこれら遺伝子を導入することによりこの耐性機構を解除できる可能性が高い。パクリタキセルとこれら遺伝子導入のコンビネーション療法の有効性を検討するために、パクリタキセル耐性の卵巣癌細胞株に、Bub3、SEPT10、USP15 の full length cDNA をレトロウイルスベクターに組み込み感染させた。これらの細胞の培養液中にパクリタキセルを添加したところ、コントロールベクターを組み込んだ細胞と比較すると明らかに増殖能が抑制された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Xu M, Takanashi M, Oikawa K, Nishi H, Isaka K, Yoshimoto T, Ohyashiki J, Kuroda M. Identification of a novel role of Septin 10 in Paclitaxel-resistance in cancers through a functional genomics screen. Cancer Sci. 2012, 103:821-827 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02221.x.
- ② Xu M, Takanashi M, Oikawa K, Tanaka M, Nishi H, Isaka K, Kudo M, Kuroda M. USP15 plays an essential role for caspase-3 activation during Paclitaxel-induced apoptosis. Biochem Biophys Res Commun. 2009, 388:366-371 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X09015678>

[学会発表] (計2件)

- ① AACR Annual Meeting 2009 (米国癌学会) April 18-22, 2009, Denver, CO, Abstract #1956: A functional genomic screen identifies a role of USP15 and Septin 10 in spindle-checkpoint and Paclitaxel-resistance in human cancers, Mingli Xu, Masakatsu Takanashi, Kosuke Oikawa, Masami Tanaka, Hirotaka Nishi, Keiichi Isaka, Motoshige Kudo and Masahiko Kuroda
- ② 16th World Congress on Advances in Oncology October 6-8, Rhodes, Greece, Genetic diagnosis for chemosensitivity with paclitaxel-sensitive genes in epithelial ovarian cancer, Hirotaka Nishi, Toru Sasaki, Yotaro Takaesu, Yuzo Nagamitsu, Chinatsu Higuma, Fumitoshi Terauchi, Masahiko Kuroda, Keiichi Isaka

[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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井坂 恵一 (ISAKA KEIICHI)
東京医科大学・産科婦人科学・教授
研究者番号：10201310

(2) 研究分担者

西 洋孝 (NISHI HIROTAKA)
東京医科大学・産科婦人科学・講師
研究者番号：60307345

(3) 連携研究者

黒田雅彦 (KURODA MASAHIKO)
東京医科大学・分子病理学・教授
研究者番号：80251304