

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791836

研究課題名（和文） タイプ2子宮体癌、特に漿液性腺癌の網羅的遺伝子発現解析に基づく分子標的治療薬開発

研究課題名（英文） Utilization of genomic signatures to identify high efficacy candidate drugs for chemo-refractory endometrial cancers.

研究代表者

馬場 長 (Baba Tsukasa)

京都大学医学研究科・講師

研究者番号：60508240

研究成果の概要（和文）：近年、多剤耐性癌では遺伝子発現が異なることが示されていることから、抗癌剤耐性を示して予後不良なタイプ2子宮体癌に対する各種制癌剤の感受性について発現マイクロアレイを基に解析した。臨床使用されている各種薬剤の感受性は低いものの、代謝拮抗剤のフルダラビンや分子標的薬であるテムシロリムスの感受性は高く、同様のスコアパターンを示した子宮体癌細胞株 HEC1A を用いてフルダラビンの感受性効果を見たところ、試験管内でもマウスの治療実験でも有意に腫瘍増大が抑えられた。以上より、難治性のタイプ2子宮体癌に対する創薬にバイオインフォマティクスが有効である可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Endometrial cancer, one of the most common gynecologic malignancies, is increasing in Japan, nearly doubling over the last decade. High grade disease patients are often resistant to conventional chemotherapy with platinum agents; therefore discovery of efficacious new drugs in this setting is required to benefit chemo-refractory cases. Through bioinformatic analysis using the NCI60 panel of cell lines with in vivo endometrial cancer data (GSE2109) and in vitro data (GSE25458), we at first calculated susceptibility scores to identify candidate drugs for chemo-refractory cases. Fludarabine and Temozolomide showed higher susceptibility scores in high grade cases compared with cisplatin, doxorubicin, and paclitaxel. Fludarabine significantly inhibited cell proliferation and increased apoptosis in the cisplatin-resistant endometrial cancer cell line, HEC1A, relative to HEC50B ( $p < 0.001$ ). Fludarabine treatment also enhanced Caspase 3/7 activity in HEC1A relative to HEC50B cells ( $p < 0.001$ ), and inhibited the growth of HEC1A xenograft tumors relative to cisplatin ( $p < 0.05$ ). Conclusions: These results support that identification and use of genomic signatures can lead to identification of new therapeutic candidates that may prove beneficial to chemo-resistant cases. Fludarabine may be useful in targeting high grade, chemo-refractory endometrial cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,300,000	690,000	2,990,000

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：婦人科腫瘍学

## 1. 研究開始当初の背景

子宮体癌は欧米の婦人科悪性腫瘍の最多病因であるだけでなく、日本でも新規患者数がこの10年で倍増し、進行例や高リスク例も多く経験される。組織型は子宮体癌の主要予後因子であり、エストロゲン非依存性に発生するType2子宮体癌、すなわち漿液性腺癌や低分化型類内膜腺癌は再発高リスク群として術後化学療法が推奨されるが奏功しないものも多く、依然その予後は不良である。近年、多剤耐性癌では遺伝子発現が異なることが示されており、抗癌剤耐性で予後不良なType2子宮体癌特有の遺伝子発現パターンを解明し個別化治療を確立することが子宮体癌全体の予後改善には不可欠と考えられ、遺伝子解析をもとに多剤耐性子宮体癌に有効な薬剤の探索を開始した。

## 2. 研究の目的

Type2子宮体癌の遺伝子発現をType1子宮体癌との比較解析をもとに多剤耐性子宮体癌に有効な薬剤を探索し、実地臨床に応用すること。

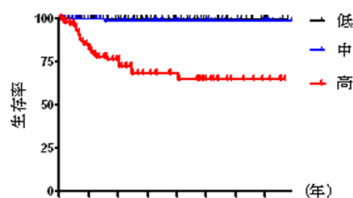
## 3. 研究の方法

文書同意下で当科で治療を行った子宮体癌患者の予後や化学療法感受性を後方的に検証し、再発リスクの低・中・高ごとに化学療法の有効性を検証した。ウェブ上で公開されている60種類の細胞株についてのマイクロアレイデータと薬剤感受性情報をもつ統合データベースNCI60および子宮体癌発現マイクロアレイデータであるGSE2109を用いて候補薬剤を抽出し、感受性スコアを子宮体癌の組織型別に算出した。さらに当科で所有する子宮体癌細胞株20株についても発現マイクロアレイから感受性スコアを算出した。シスプラチン・ドキシソルビシン・パクリタキセルへの感受性スコアが高いものを感受性株として、また低いものを難治性株として選択し、*in vitro*でWSTアッセイとアポトーシスアッセイを行い、候補薬剤の増殖抑制および細胞死誘導効果を検討した。さらにマウス皮下腫瘍モデルにシスプラチンと候補薬剤を投与し、*in vivo*での腫瘍増殖抑制効果も比較検討した。

図1. 再発リスクごとの生存曲線

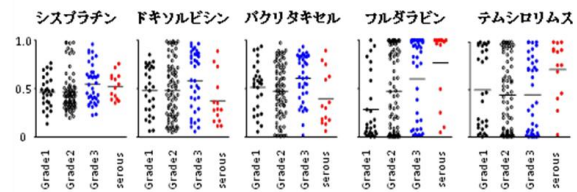
## 4. 研究成果

2010年までに当科で治療を行った子宮体癌262例のうち再発高リスク群94例では、半数以上が抗癌剤に耐性を示してその5年生存率は65%と、低リスク群(100%)や中リスク群(98%)と比較して著しく予後不良であった(図1,  $p < 0.0001$ )。



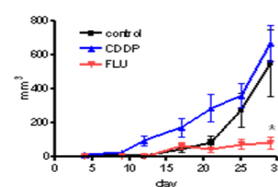
ケモゲノミクス解析において、他の組織型と比較し、漿液性腺癌での感受性スコアはシスプラチン、ドキシソルビシン、パクリタキセルで低い一方で、代謝拮抗剤のフルダラビン ( $p < 0.001$ ) や分子標的薬であるテムシロリムス ( $p < 0.05$ ) で高かった(図2)。

図2. 子宮体癌に対する各種薬剤の感受性スコア



20種の細胞株の中でHEC1Aはシスプラチン・ドキシソルビシン・パクリタキセルの感受性スコアが低い一方で、フルダラビンの感受性スコアが高く、漿液性腺癌を模する難治性細胞株と予想された。感受性株であるAN3CAや中間型のHEC50Bと比べてHEC1Aに対するフルダラビンの増殖抑制効果が高く、マウスでも有意に腫瘍増大が抑えられた(図3,  $p < 0.05$ )。さらにフルダラビンの濃度依存性にCaspase3の発現誘導を認め、細胞死誘導効果が増強した。以上より、難治性のタイプ2子宮体癌に対する創薬にバイオインフォマティクスが有効である可能性が示された。

図3. マウスを用いた治療実験



## 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10件)

1. Kharma B, Baba T, Mandai M, Matsumura N, Murphy SK, Kang HS, Yamanoi K, Hamanishi J, Yamaguchi K, Yoshioka Y, Konishi I. Utilization of genomic signatures to identify high efficacy candidate drugs for chemo-refractory endometrial cancers. *Int J Cancer*. 2013 Apr 18. doi: 10.1002/ijc.28220. (査読: 有)
2. Fujiwara H, Nishioka Y, Matsumoto H, Suginami K, Horie A, Tani H, Matsumura N, Baba T, Sato Y, Araki Y, Konishi I. Eph-ephrin A system regulates human choriocarcinoma-derived JEG-3 cell invasion. *Int J Gynecol Cancer*. 2013;23(3):576-82. doi: 10.1097/IGC.0b013e3182849e36. (査読: 有)
3. Matsumoto T, Hiura M, Baba T, Ishiko O, Shiozawa T, Yaegashi N, Kobayashi H,

- Yoshikawa H, Kawamura N, Kaku T. Clinical management of atypical polypoid adenomyoma of the uterus. A clinicopathological review of 29 cases. *Gynecol Oncol*. 2013 Apr;129(1):54-7. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.12.040. (査読:有)
4. Abiko K, Mandai M, Hamanishi J, Yoshioka Y, Matsumura N, **Baba T**, Yamaguchi K, Murakami R, Yamamoto A, Kharma B, Kosaka K, Konishi I. PD-L1 on tumor cells is induced in ascites and promotes peritoneal dissemination of ovarian cancer through CTL dysfunction. *Clin Cancer Res*. 2013 Mar 15;19(6):1363-74. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2199. (査読:有)
  5. Suzuki A, Kariya M, Matsumura N, **Baba T**, Yagi H, Mandai M, Konishi I, Fujii S. Expression of p53 and p21(WAF-1), apoptosis, and proliferation of smooth muscle cells in normal myometrium during the menstrual cycle: implication of DNA damage and repair for leiomyoma development. *Med Mol Morphol*. 2012 Dec;45(4):214-21. doi: 10.1007/s00795-011-0562-3. (査読:有)
  6. Ueda Y, Mandai M, Matsumura N, **Baba T**, Suzuki A, Yoshioka Y, Kosaka K, Konishi I. Adenoid cystic carcinoma of skene glands: arare origin in the female genital tract and the characteristic clinical course. *Int J Gynecol Pathol*. 2012 Nov;31(6):596-600. doi: 10.1097/PGP.0b013e31824d357e. (査読:有)
  7. Yamanoi K, Mandai M, Suzuki A, Matsumura N, **Baba T**, Yoshioka K, Kosaka K, Konishi I. Synchronous primary corpus and ovarian cancer: High incidence of endometriosis and thrombosis. *Oncol Lett*. 2012 Sep;4(3):375-380. doi: 10.3892/ol.2012.770. (査読:有)
  8. **Baba T**, Su S, Umeoka S, Abiko K, Nakamoto Y, Mandai M, Matsumura N, Konishi I. Advanced extragonadal yolk sac tumor serially followed up with 18F-fluorodeoxyglucose-PET/CT and serum AFP. *J Obstet Gynaecol Res*. 2012 Mar;38(3):605-9. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01752.x. (査読:有)
  9. Taki M, **Baba T**, Mandai M, Suzuki A, Mikami Y, Matsumura N, Konishi I. A case of solitary fibrous tumor arising slowly in vulva over 10 years - Case Report and Review. *J Obstet Gynaecol Res*. 2012 May;38(5):884-8. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01792.x. (査読:有)
  10. Satoh H, **Baba T**, Mandai M, Suzuki A, Matsumura N, Konishi I. A Primary Squamous Cell Carcinoma of Fallopian Tube Accompanied with Gastric Metaplasia of Female Genital Tract- Case Report and Review. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37(8):1106-11. doi: 10.1111/j.1447-0756.2010.01464.x. (査読:有)
- [学会発表] (計 5 件)
1. Kharma B, **Baba T**, Mandai M, Matsumura N, Hamanishi J, Yamaguchi K, Konishi I. Tumor-associated-Lymphocytes attenuate tumor immunity to promote progression of serous endometrial cancer via STAT1 pathway. The Ninth AACR-Japanese Cancer Association Joint Conference: Breakthroughs in Basic and Translational Cancer Research, February 21-25, 2013 at the Hyatt Regency Maui in Maui, HI.
  2. Kharma B, **Baba T**, Mandai M, Matsumura N, Hamanishi J, Yamaguchi K, Konishi I. Tumor-associated-Lymphocytes attenuate tumor immunity to promote progression of serous endometrial cancer via STAT1 pathway. 14th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society. October 13-16, 2012, Vancouver, Canada
  3. Kharma B, **Baba T**, Mandai M, Matsumura N, Hamanishi J, Yamaguchi K, Konishi I. Tumor-associated-Lymphocytes attenuate tumor immunity to promote progression of serous endometrial cancer via STAT1 pathway. 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. September 19-21, 2012, Sapporo, Japan
  4. Kharma B, **Baba T**, Mandai M, Matsumura N, Hamanishi J, Yamaguchi K, Konishi I. Tumor-associated-Lymphocytes attenuate tumor immunity to promote progression of serous endometrial cancer via STAT1 pathway. 64th Annual Meeting of the Japanese Society of

Obstetrics and Gynecology. April 13-15, 2012, Kobe, Japan

5. **Baba T**, Kharma B, Mandai M, Yoshioka Y, Hamanishi J, Matsumura N, Yamaguchi K, Murphy SK, Konishi I. Utilization of genomic signatures to identify Fludarabine and Temozolomide as candidate drugs with high efficacy to chemo-refractory endometrial cancers. The 43<sup>rd</sup> SGO Annual Meeting on Women's Cancer. March 24-27, 2012, Austin, TX

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場 長 (Tsukasa Baba)  
京都大学・医学研究科・講師  
研究者番号：60508240