

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462615

研究課題名(和文) 卵巣明細胞腺癌に対するIL6/STAT3シグナルを標的とした分子標的治療法の確立

研究課題名(英文) Antitumor effects of interleukin-6 (IL-6)/interleukin-6 receptor (IL-6R) signaling pathway inhibition in clear cell carcinoma of the ovary

研究代表者

矢内原 臨 (Yanaiharu, Nozomu)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：20349624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、卵巣明細胞腺癌(CCC)におけるIL-6/IL-6R-Stat3シグナルの臨床病理学的な関与及びその分子標的治療の可能性について検討した。同意の得られたCCC84例を対象とした発現検討では、IL-6R高発現が予後不良因子となることが明らかとなった。またCCC細胞株に対する同シグナル抑制実験(sirRNA法及び抗IL-6受容体モノクローナル抗体)では、細胞浸潤能の低下及び薬剤感受性の亢進が確認された。以上より、CCCにおいて同シグナルは細胞の悪性化に重要な役割を担うことが明らかとなった。またCCCに対する抗IL-6受容体モノクローナル抗体を用いた分子標的治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Clear cell carcinoma of the ovary (CCC) has unique clinical and molecular characteristics. Recently, CCC was characterized by upregulation of the IL-6/IL-6R-Stat3 signal. In this study, we aim to clarify whether IL-6/IL-6R mediated signal pathway could have clinical relations with CCC and to evaluate inhibitory effects of the pathway on CCC carcinogenesis. A total of 84 CCC cases were evaluated by the immunohistochemical analysis for IL-6R and we found that high IL-6R expression correlated with poor patient survival. We further investigated the effects of IL-6/IL-6R signal inhibition either by IL-6R sirRNA or humanized anti-human IL-6R antibody in CCC. Inhibition of endogenous IL-6R in CCC did reduce cell invasion ability and restored their response to cytotoxic reagent. These data suggest that IL-6/IL-6R signal could act on CCC cells to enhance invasion and chemoresistance and, therefore, targeting IL-6/IL-6R mediated signaling pathway could be a promising therapeutic strategy for CCC.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：IL-6/STAT3シグナル IL-6受容体 卵巣明細胞腺癌

## 1. 研究開始当初の背景

上皮性卵巣癌は主に4つの組織型が含まれるが、本邦では明細胞腺癌が15-20%と欧米に比較して著しく多い。化学療法に抵抗性を示し予後不良であること、子宮内膜症に高頻度に合併すること、動静脈血栓症が併発することなど、明細胞腺癌の臨床病態はユニークである。特に、化学療法抵抗性に関するメカニズムの解明は、治療法の選択や患者予後に直結することからも重要と考えられる。明細胞腺癌に対する化学療法は卵巣癌全体に準じてパクリタキセル・カルボプラチン併用療法が施行されているが、欧米の大規模臨床試験では、明細胞腺癌は2-5%程度しか含まれておらず十分に検討されているとはいえない。本邦主導で行われた明細胞腺癌に対する初回化学療法を比較するランダム化臨床第 Ⅲ 相試験 (GCIG/JGOG3017)の結果が重要となる。しかしながらこれまでに明細胞腺癌に対して高い奏効率を示す新規抗癌剤の報告はなく、予後改善のためには分子標的治療薬の効果も同時に検討する必要があると思われる。卵巣癌に対する分子標的治療では、GOG218 及びICON7 において、Bevacizumab の有用性が報告されている (Burger *et al.*, *N Engl J Med*, 2011; Perren *et al.*, *N Engl J Med*, 2011)。しかしながら、これらは主に漿液性腺癌を中心としており、明細胞腺癌に対する検討は大規模試験ではほとんどなされていないのが現状である。

我々は、上皮性卵巣癌50症例を対象とした16種の免疫関連遺伝子の網羅的発現解析を行い、卵巣癌の病理組織型を特徴づける発現プロファイルを見いだした (Yanaiharu *et al.*, *Int J Oncol*.2012)。明細胞腺癌ではTh2サイトカイン優位な発現パターンを呈し、特にIL-6が高発現していることが明らかとなった。また、明細胞腺癌細胞株においてIL-6の発現抑制を行うことにより、STAT3のリン酸化が抑制され、抗癌剤感受性が亢進した。

近年、抗IL-6モノクローナル抗体 (Siltuximab) が *in vitro* で抗腫瘍効果を持つことが示され (Guo *et al.*, *Clin Cancer Res*, 2010)、薬剤耐性卵巣癌を対象とした Siltuximab の第 Ⅲ 相臨床試験でも、一定の治療効果を認めた (Coward *et al.*, *Clin Cancer Res*, 2011)。以上の結果は、IL-6/STAT3 シグナルが、卵巣明細胞腺癌における有力な分子ターゲットとなる可能性を示唆している。しかしながら、IL-6/STAT3 シグナルにおける重要な開始起点であるIL-6受容体に関しては卵巣癌を含め、悪性腫瘍全般についてその報告は少ない。

## 2. 研究の目的

本研究では、卵巣明細胞腺癌における (1) IL-6 受容体及びSTAT3 (リン酸化) の発現及び機能を検討すること (2) 抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体の分子標的治療薬としての有用性を検討すること を主な目的とする。

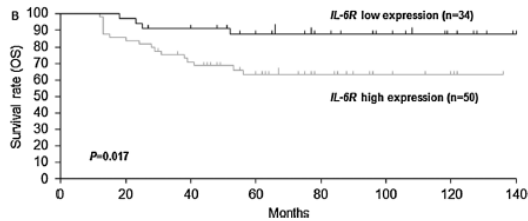
## 3. 研究の方法

(1) 卵巣明細胞腺癌における IL-6 受容体及びSTAT3 (リン酸化) の発現解析: 外科的切除が施行され、Informed consent の得られた卵巣明細胞腺癌 84 症例を対象とし、IL-6 受容体及び STAT3 (リン酸化) の発現を免疫組織染色法に供し、タンパク質レベルで解析する。得られた発現データは予後を含む各種臨床病理学的因子と対比し、その関連性を検討する。

(2) 卵巣明細胞腺癌細胞株を用いた IL-6 受容体発現制御及び抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体による細胞効果の検討: 培養細胞株を用いた *in vitro* の系において、IL-6 受容体の一過性発現制御に対する細胞生物学的変化を検討すると同時に、その変化に関連するIL-6/STAT3 シグナルの下流因子を同定する。またヒト化抗ヒト IL-6 受容体モノクローナル抗体である Tocilizumab についても同様に検討する。

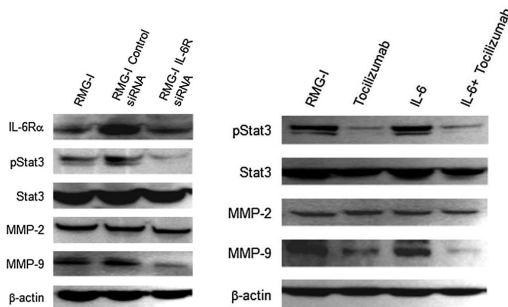
#### 4. 研究成果

(1) 卵巣明細胞腺癌における IL-6R 高発現は単変量及び多変量解析のいずれにおいても予後不良因子であった(下図)。



一方、IL-6R 発現と年齢・臨床進行期・残存腫瘍径・pStat3 発現などの臨床病理学因子との相関関係は認めなかった。

(2) 明細胞腺癌細胞株 2 種を用いて, IL-6/IL-6R-Stat3 シグナル抑制効果を検討した。siRNA 法及び Tocilizumab によるシグナル抑制により、MMP-9 発現が制御され細胞の浸潤能が低下した。また同様に Stat3 のリン酸化が抑制されることにより、細胞の抗癌剤に対する感受性が亢進した。



以上の結果は、IL-6/IL-6R-Stat3 シグナルが明細胞腺癌において高度に活性化され細胞の悪性化において重要な役割を担っていることを示している。また明細胞腺癌に対する IL-6/IL-6R-Stat3 シグナルをターゲットとする抗 IL-6 受容体モノクローナル抗体を用いた分子標的治療の可能性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

1. Yanaiharu N, Hirata Y, Yamaguchi N, Noguchi Y, Saito M, Nagata C,

Takakura S, Yamada K, Okamoto A.

Antitumor effects of interleukin-6 (IL-6)/interleukin-6 receptor (IL-6R) signaling pathway inhibition in clear cell carcinoma of the ovary. *Mol Carcinog.* 2016;55:832-41. 査読有 DOI: 10.1002/mc.22325

2. Hirata Y, Murai N, Yanaiharu N, Saito M, Saito M, Urashima M, Murakami Y, Matsufuji S, Okamoto A. MicroRNA-21 is a candidate driver gene for 17q23-25 amplification in ovarian clear cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2014;3:14:799. 査読有 DOI:10.1186/1471-2407-14-799.

[学会発表](計2件)

1. 矢内原 臨, 岡本 愛光  
卵巣明細胞腺癌におけるゲノムコピー数・遺伝子発現解析による分子生物学的機構の解明(招待講演)  
第53回 日本癌治療学会学術集会  
2015年10月 京都
2. 矢内原 臨, 平田 幸広, 山口 乃里子, 野口 幸子, 斎藤 美里, 山田 恭輔, 岡本 愛光  
卵巣明細胞腺癌に対する IL-6/IL-6R-Stat3 シグナルを標的とした分子標的治療法の確立  
第3回 婦人科癌バイオマーカー研究会  
2015年2月 福岡

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

矢内原 臨 (YANAIHARA NOZOMU)  
東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号：20349624

### (2) 研究分担者

山田 恭輔 (YAMADA KYOSUKE)  
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：30230452

高倉 聡 (TAKAKURA SATOSHI)  
東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号：60256401  
(平成 27 年度より分担者削除)

落合 和徳 (OCHIAI KAZUNORI)  
東京慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号：20152514  
(平成 26 年度より分担者削除)