

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861473

研究課題名(和文) 卵巣明細胞腺癌における遺伝子プロファイルに基づく新規分子標的治療法の探索

研究課題名(英文) Search for the New Molecular Targeted Therapies Based on Genetic Profiles of Ovarian Clear Cell Carcinoma

研究代表者

上原 ゆり子 (UEHARA, YURIKO)

東京大学・医学部附属病院・登録研究医

研究者番号：50648433

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣明細胞腺癌は初期であっても化学療法に感受性が低く、他の組織型と比較して予後不良である。そのため卵巣明細胞腺癌に絞った予後を予測するバイオマーカーの解明とそれに基づいた分子標的薬の開発、臨床応用が求められている。

本研究では卵巣癌臨床検体を用い、SNPタイピングアレイにより網羅的な染色体コピー数異常を解析し、組織型毎の染色体コピー数異常の意義を検討した。また発現マイクロアレイにより遺伝子発現量を比較し、その結果を用いて遺伝子発現の特徴による分類を行った。さらに明細胞腺癌のみを対象として新たなサブクラスターに分類することで、卵巣明細胞腺癌の予後に関わる遺伝子群やシグナル伝達経路を抽出しえた。

研究成果の概要(英文)：Among various histological subtypes of epithelial ovarian cancer, ovarian clear cell carcinoma is generally chemoresistant and associated with poor clinical outcome even at an early stage. Therefore, biomarkers to predict the prognosis of clear cell carcinoma and the development of novel molecular targeted therapies, on the basis of these biomarkers, are warranted.

In this study, we performed single nucleotide polymorphism analysis with clinical samples of ovarian cancer and evaluated the relationships between chromosomal instability and histological subtypes. Then, we performed microarray gene expression profiling and analyzed three subtypes defined with hierarchical clustering of the gene expression data. We further subclassified the clinical samples of clear cell carcinoma by gene expression profiling, and extracted the gene expression profiles and the signal pathway which might be associated with prognosis and chemoresistance of ovarian clear cell carcinoma.

研究分野：産婦人科学

キーワード：卵巣明細胞腺癌 染色体コピー数解析 遺伝子発現解析 クラスター解析 ARID1A PIK3CA

1. 研究開始当初の背景

発癌の原因は一昔前、喫煙や食生活など、抽象的な環境因子を中心に語られてきた。しかし遺伝子解析が進み、ヒト遺伝子の網羅的な解析が急速に発展するにつれて、さまざまな遺伝子の発現異常が蓄積していくことで浸潤、転移などの悪性形質を獲得していくことが明らかとなってきている。

卵巣癌は発症率に比して致死率が高く、婦人科癌において最も死亡率の高い悪性腫瘍である。同じ卵巣上皮由来でありながら、多数の組織型が存在し、分子生物学的にも多様であるため、その発癌過程の相違には未知の部分も多い。また、従来報告されている卵巣癌の解析の多くは最も高頻度である漿液性腺癌が中心であり、欧米では症例が少なく、アジア系の中でも特に日本人に多い明細胞腺癌については、網羅的な解析はいまだ不十分である。明細胞腺癌は特に化学療法に低感受性であり、今後個々の組織型により適した治療法を選択するためには、組織型毎の遺伝子異常についての解析が重要である。

2. 研究の目的

近年、卵巣癌の発癌機序の多様性が広く認識されるようになっており、漿液性腺癌以外の組織型についても網羅的なゲノム解析を行う必要性が国外でも増してきている。特に卵巣明細胞腺癌においては、ゲノムのプロファイルが他の組織型とは大きく異なり、明細胞腺癌に絞り込んだ治療戦略を確立していくことが、既存治療への低感受性を克服するうえで不可欠であるといえる。そこで、本研究では卵巣明細胞腺癌の分子生物学的特徴を明らかとし、明細胞腺癌に有効な新規治療法について検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象

当院倫理委員会の承認のもと、患者からの同意の得られた卵巣癌臨床検体 150 例 (うち明細胞腺癌 70 例) を用い、DNA、RNA を抽出した。その他、パラフィン切片を用いた卵巣癌組織マイクロアレイを利用し、免疫染色も行った。

(2) 染色体コピー数異常の解析

ゲノムワイドな染色体コピー数異常について、SNP タイピングアレイを用いて解析した。これにより、関連遺伝子の増幅・欠失の有無が明らかとなる。特に明細胞腺癌におけるコピー数異常の程度と予後について Kaplan-Meier を用いて解析し、明細胞腺癌におけるコピー数異常の意義を検討した。

(3) 遺伝子発現アレイ

臨床検体 mRNA を用いて、発現マイクロアレイにより解析した。これにより、mRNA レベルの遺伝子発現量を比較し、またその結果を用いて階層的クラスタリングすることにより、遺伝子発現の特徴による分類を行った。さらに、明細胞腺癌のみを対象とした階層的クラスタリングをすることで、明細胞腺癌に

おける、化学療法の感受性と相関する亜分類を同定した。

(4) 卵巣明細胞腺癌の亜分類に特異的な経路の検討

卵巣明細胞腺癌との関連が報告されている ARID1A の免疫染色や PIK3CA の遺伝子について変異の有無について解析した。また亜分類で特徴がみられた遺伝子発現についても RT-PCR などにより確認を行った。

(5) 明細胞腺癌の亜分類特異的な経路を標的とした治療薬の抗腫瘍効果の検討

上記解析で得られた遺伝子群やシグナル伝達経路に基づいて、現在市販購入可能な標的経路阻害剤を用いて、卵巣明細胞腺癌株への抗腫瘍効果の検討を行った。

4. 研究成果

(1) ゲノムワイドな染色体コピー数異常 (増幅・欠失を含む) について、SNP タイピングアレイを用いて解析した。これにより、関連遺伝子の増幅・欠失の有無が明らかとなり、組織型毎に染色体コピー数異常の特徴がみられた。漿液性腺癌では狭い領域で染色体コピー数異常を高頻度に認めた。一方で明細胞腺癌ではコピー数異常の頻度は低く、染色体の腕単位での異常が多かった。しかし、明細胞腺癌の中で比較すると染色体不安定性は予後不良な傾向を示していた。

(2) 臨床検体 mRNA を用いて、発現マイクロアレイにより遺伝子発現量を比較解析し、その結果を用いた階層的クラスタリングにより遺伝子発現の特徴による分類を行った。それらのクラスターは概ね組織型毎に分類され、各組織型による遺伝子発現の特徴を示していた。さらに、明細胞腺癌のみを対象として階層的クラスタリングを行うことで、明細胞腺癌における、化学療法の感受性と相関する亜分類を同定した。

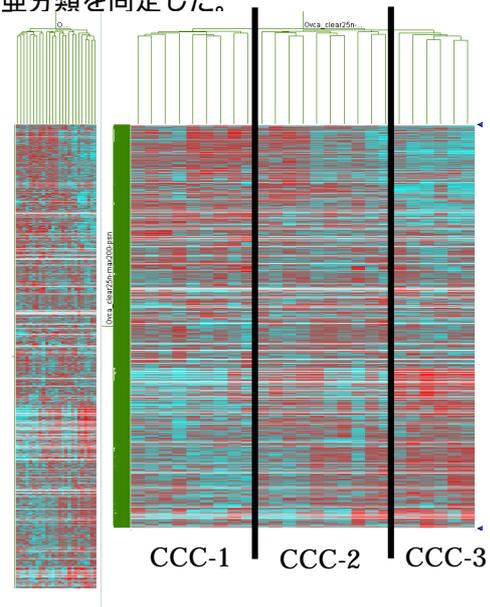


図1 卵巣明細胞腺癌 25 例における発現アレイによる階層的クラスタリング 3 群 (CCC-1, 2, 3) に分類された。

(3) 卵巣明細胞腺癌における亜分類と予後との相関について解明するため、卵巣明細胞腺癌との関連が報告されている ARID1A の免疫染色や PIK3CA の遺伝子変異の有無についても解析を行った。そして、それらを統合して明細胞腺癌における亜分類と予後との相関を解析したところ、独立した予後良好因子となる亜分類を抽出し得た。さらに明細胞腺癌の予後に関わる亜分類に特徴的な遺伝子群やシグナル伝達経路を抽出し、卵巣明細胞腺癌に特徴的な治療薬の確立とそのバイオマーカーの同定に向けて基礎的な研究成果を論文に発表した。

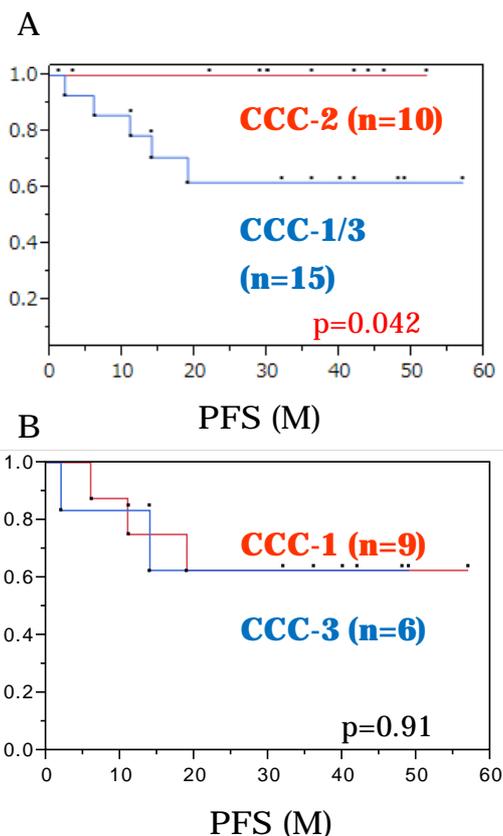


図2 卵巣明細胞腺癌亜分類におけるKaplan-Meierによる予後比較

発現アレイの階層的クラスタリングに基づき、明細胞腺癌を3群に分類し、無増悪生存期間 (Progression Free Survival: PFS) を比較検討した。

<引用文献>

Uehara Y, Oda K, Ikeda Y et al: Integrated copy number and expression analysis identifies profiles of whole-arm chromosomal alterations and subgroups with favorable outcome in ovarian clear cell carcinomas. PLoS One 10:e0128066, 2015

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5件)

上原 ゆり子, 石本 慶子, 大野 珠美, 山田 陽子, 勢多 真理子, 五味淵 秀人: 右卵巣腫瘍と術前診断された虫垂粘液嚢胞腺腫の1例

東京産科婦人科学会誌(2186-0599)65 巻1号 Page32-36(2016.01) (査読有)

Inaba K, Oda K, Ikeda Y, Sone K, Miyasaka A, Kashiyama T, Fukuda T, Uehara Y, Arimoto T, Kuramoto H, Wada-Hiraike O, Kawana K, Yano T, Osuga Y, Fujii T.: Antitumor activity of a combination of dual PI3K/mTOR inhibitor SAR245409 and selective MEK1/2 inhibitor pimasertib in endometrial carcinomas. (査読有)

Gynecol Oncol. 2015 Aug;138(2):323-31. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.05.031.

Miyasaka A, Oda K, Ikeda Y, Sone K, Fukuda T, Inaba K, Makii C, Enomoto A, Hosoya N, Tanikawa M, Uehara Y, Arimoto T, Kuramoto H, Wada-Hiraike O, Miyagawa K, Yano T, Kawana K, Osuga Y, Fujii T.: PI3K/mTOR pathway inhibition overcomes radioresistance via suppression of the HIF1- /VEGF pathway in endometrial cancer. (査読有)

Gynecol Oncol. 2015 Jul;138(1):174-80. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.04.015.

Uehara Y, Oda K, Ikeda Y, Koso T, Tsuji S, Yamamoto S, Asada K, Sone K, Kurikawa R, Makii C, Hagiwara O, Tanikawa M, Maeda D, Hasegawa K, Nakagawa S, Wada-Hiraike O, Kawana K, Fukayama M, Fujiwara K, Yano T, Osuga Y, Fujii T, Aburatani H.: Integrated copy number and expression analysis identifies profiles of whole-arm chromosomal alterations and subgroups with favorable outcome in ovarian clear cell carcinomas. (査読有)

PLoS One 10:e0128066, 2015

doi: 10.1371/journal.pone.0128066.

Miyasaka A, Oda K, Ikeda Y, Wada-Hiraike O, Kashiyama T, Enomoto A, Hosoya N, Koso T, Fukuda T, Inaba K, Sone K, Uehara Y, Kurikawa R, Nagasaka K, Matsumoto Y, Arimoto T, Nakagawa S, Kuramoto H, Miyagawa K, Yano T, Kawana K, Osuga Y, Fujii T.: Anti-tumor activity of olaparib, a poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor, in cultured endometrial carcinoma cells. (査読有) BMC Cancer2014 14:179 DOI: 10.1186/1471-2407-14-179

[学会発表](計8件)

上原 ゆり子, 石本 慶子, 大野 珠美, 山田 陽子, 勢多 真理子, 五味淵 秀人:

右卵巢腫瘍と術前診断された虫垂粘液嚢胞腺腫の1例

第375回東京産科婦人科学会例会
JA共済ビルカンファレンスホール(東京都)
2015年9月19日

勢多 真理子, 石本 慶子, 大野 珠美, 上原 ゆり子, 山田 陽子, 五味淵 秀人:
腹腔鏡下子宮全摘術後に炎症反応高値と発熱、腹痛が持続し診断に苦慮した症例
第55回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会

2015年9月10日~2015年9月12日
パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

Kayo Asada, Katsutoshi Oda, Kengo Gotoh, Reiko Kurikawa, Shogo Yamamoto, Kenji Tatsuno, Hiroki Ueda, Yuji Ikeda, Yuriko Uehara, Kenbun Sone, Osamu Hiraike-Wada, Kei Kawana, Tetsu Yano, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii, Hiroyuki Aburatani:

Identification of genetic heterogeneity by whole exome sequencing using cell free DNA from blood samples.

AACR 106th Annual Meeting 2015
Philadelphia (USA)

2015年4月18日~2015年4月22日

神尊 貴裕, 織田 克利, 上原 ゆり子, 浅田 佳代, 池田 悠至, 宮坂 亞希, 中川 俊介, 恩田 貴志, 平池 修, 川名 敬, 大須賀 穰, 藤井 知行: 卵巣明細胞腺癌における統合的ゲノム・エピゲノム解析

第66回日本産科婦人科学会学術講演会
2014年4月18日~2014年4月20日
東京国際フォーラム(東京都)

Aki Miyasak, Katsutoshi Oda, Yuji Ikeda, Osamu Wada-Hiraike, Kenbun Sone, Yuriko Uehara, Yoko Matsumoto, Takahide Arimoto, Shunsuke Nakagawa, Hiroyuki Kuramoto, Tetsu Yano, Kei Kawana, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii: Anti-tumor effect of olaparib, a poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor, in endometrial carcinoma cell lines.

2014 AACR annual meeting

San Diego, California (USA)

2014年4月5日~2014年4月9日

Kayo Asada, Takahiro Koso, Katsutoshi Oda, Yuriko Uehara, Shogo Yamamoto, Kenji Tatsuno, Hiroki Ueda, Reiko Kurikawa, Yuji Ikeda, Osamu Hiraike, Kei Kawana, Tetsu Yano, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii, Hiroyuki Aburatani:

Comparison of genomic alteration patterns between ovarian clear cell carcinoma and renal cell carcinoma.

AACR special Conference: Advances in Ovarian Cancer Research From Concept to Clinic

2013年9月18日~2013年9月21日

Miami (USA)

Kayo Asada, Takahiro Koso, Katsutoshi

Oda, Yuriko Uehara, Shogo Yamamoto, Kenji Tatsuno, Hiroki Ueda, Yuji Ikeda, Osamu Hiraike, Kei Kawana, Tetsu Yano, Tomoyuki Fujii, Hiroyuki Aburatani:

Comparison of genomic alteration patterns between ovarian clear cell carcinoma and renal cell carcinoma.

第72回日本癌学会学術総会

2013年10月3日~2013年10月5日

パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

神尊 貴裕, 織田 克利, 上原 ゆり子, 浅田 佳代, 山本 尚吾, 辰野 健二, 上田 宏生, 池田 悠至, 平池 修, 川名 敬, 藤井 知行, 油谷 浩幸: 卵巣明細胞腺癌の統合的ゲノム解析

第72回日本癌学会学術総会

2013年10月3日~2013年10月5日

パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

〔図書〕(計 1件)

上原 ゆり子 織田 克利

メディカルレビュー社 がん分子標的治療
Vol.14 No.1 2016 p116~122

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

上原 ゆり子 (UEHARA, Yuriko)

東京大学医学部付属病院 登録研究医

研究者番号: 50648433

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: