

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670722

研究課題名(和文) 卵巣癌細胞の足場非依存性増殖能獲得に伴う化学療法耐性機序の解明

研究課題名(英文) Chemoresistance through acquisition of anchorage-independent cell growth in ovarian cancer.

研究代表者

三瀬 裕子 (MISE, HIROKO)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・その他

研究者番号：90725607

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：足場非依存性増殖能は癌細胞の性質として知られているが、すべての癌細胞がこの性質を示すわけではない。今回我々は、卵巣癌細胞株OVCA420細胞を用いて、shRNAライブラリーを用いた機能ゲノミクススクリーニングを行った。その結果、ABHD2の発現抑制が、卵巣癌細胞において足場非依存性増殖能の亢進をもたらすことを見出した。また、ABHD2の発現抑制は、卵巣癌の臨床サンプルおよび細胞株において化学療法抵抗性と相関していた。この結果は、卵巣癌におけるDNA異常が、どのように癌の進展や薬剤抵抗性に関わるかを明らかにしており、新規治療法や薬剤選択のバイオマーカー開発のために有用と考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is known that anchorage-independent growth is a character of cancer cells. However, not all the cancer cells have this ability. In this study, we conducted a functional genomics screening by using an shRNA library. Then we found knockdown of ABHD2 increased the ability of anchorage-independent growth. Additionally, in both clinical samples and cell lines, suppressed expression of ABHD2 was associated with resistance to platinum. These results revealed how DNA aberrations in ovarian cancer cause cancer progression and drug resistance and would be useful to develop a new therapy and a biomarker to select drugs.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巣癌 機能ゲノミクス 足場非依存性増殖 化学療法抵抗性

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌は診断時には進行例が多く、手術のみでは完治せず、化学療法が必須である。しかしいったんは化学療法が奏功しても、再発し、最終的には薬物療法抵抗性となることが多い。卵巣高異型度漿液性腺癌(high-grade serous ovarian carcinoma; HGSOc)は、卵巣癌の中でも最も予後不良の組織型で、新規治療法の開発が求められている。足場非依存性増殖能(anoikis 抵抗性)は、癌細胞の性質として代表的なものの一つであるが、すべての癌細胞がその性質を備えている訳ではない。

2. 研究の目的

卵巣癌細胞において、足場非依存性増殖をもたらず遺伝子異常について同定し、臨床との関連を調べる。

3. 研究の方法

軟寒天培地でコロニーを形成しない(足場非依存性増殖能をもたない)卵巣癌細胞株 OVCA420 を用いて、shRNA ライブラリーを遺伝子導入して、軟寒天培地で生じたコロニーを pick up し、どの遺伝子の発現低下が anoikis 抵抗性をもたらずか同定した。The Cancer Genome Atlas (TCGA)や自施設の HGSOc データを解析した。また、薬剤感受性との関連を調べた。

4. 研究成果

ABHD2, *CYB5R3*, *ELAC2* の低下が anoikis 抵抗性をもたらずことを見出した。それら 3 遺伝子の locus は、HGSOc 臨床サンプルにおいて高頻度に copy 数の低下を認めた。HGSOc において、*ABHD2* の発現低下は ERK 経路および p38 経路の活性化および、臨床サンプルおよび細胞株におけるプラチナ抵抗性をもたらしした。

本研究により、卵巣癌の悪性化および化学療法抵抗性に寄与する新規の遺伝子異常を同定することができた。本研究の成果は、卵巣癌の化学療法感受性を予測するためのバイオマーカー開発や、新規治療法開発につながるかと期待される。

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 33 件)

1) Kitamura S, Matsumura N, Ohtake N, Kita M, Konishi I. Tubo-ovarian abscess with endometrial cyst probably infected by *Campylobacter fetus*: Two cases. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016 Apr 14. [Epub ahead of print] doi: 10.1111/jog.13004. 査読有り

2) Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, Matsumura N, Baba T, Konishi I. Dual faces of IFN- γ in cancer progression: a role of PD-L1 induction in the determination of

pro- and anti-tumor immunity. *Clin Cancer Res.* 2016 Mar 25. pii: clincanres.0224.2016. [Epub ahead of print], Review doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0224 査読有り

3) Murakami R, Matsumura N, Brown JB, Wang Z, Yamaguchi K, Abiko K, Yoshioka Y, Hamanishi J, Baba T, Koshiyama M, Mandai M, Yamada R, Konishi I. Prediction of taxane and platinum sensitivity in ovarian cancer based on gene expression profiles. *Gynecol Oncol.* 2016 Apr;141(1):49-56. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.02.027. 査読有り

4) Murakami R, Matsumura N, Mandai M, Yoshihara K, Tanabe H, Nakai H, Yamanoi K, Abiko K, Yoshioka Y, Hamanishi J, Yamaguchi K, Baba T, Koshiyama M, Enomoto T, Okamoto A, Murphy SK, Mori S, Mikami Y, Minamiguchi S, Konishi I. Establishment of a Novel Histopathological Classification of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma Correlated with Prognostically Distinct Gene Expression Subtypes. *Am J Pathol.* 2016 Mar 15. pii: S0002-9440(16)00134-6. [Epub ahead of print] doi: 10.1016/j.ajpath.2015.12.029. 査読有り

5) Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, Matsumura N, Baba T, Konishi I. Anti-PD-L1/PD-1 immune therapies in ovarian cancer: basic mechanism and future clinical application. *Int J Clin Oncol.* 2016 Mar 11. [Epub ahead of print] Review. 10.1007/s10147-016-0968-y 査読有り

6) Hamanishi J, Mandai M, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Konishi I. PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues. *Int J Clin Oncol.* 2016 Feb 22. [Epub ahead of print] Review. 10.1007/s10147-016-0959-z 査読有り

7) Abou-Taleb HA, Koshiyama M, Matsumura N, Baba T, Yamaguchi K, Hamanishi J, Abiko K, Yamanoi K, Murakami R, Horikawa N, Taha AA, Kitamura S, Konishi I. Clinical efficacy of neoadjuvant chemotherapy with irinotecan (CPT-11) and nedaplatin followed by radical hysterectomy for locally advanced cervical cancer. *J Int Med Res.* 2016 Apr;44(2):346-56. doi: 10.1177/0300060515591858. 査読有り

8) Peng J, Yoshioka Y, Mandai M, Matsumura N, Baba T, Yamaguchi K, Hamanishi J, Kharm B, Murakami R, Abiko K, Murphy SK, Konishi I. The BMP signaling pathway leads to enhanced proliferation in serous ovarian cancer—a potential therapeutic target. *Mol Carcinog.* 2016 Apr;55(4):335-45. doi:

10.1002/mc.22283. 査読有り

9) Peng J, Hamanishi J, Matsumura N, Abiko K, Murat K, Baba T, Yamaguchi K, Horikawa N, Hosoe Y, Murphy SK, Konishi I, Mandai M. Chemotherapy Induces Programmed Cell Death-Ligand 1 Overexpression via the Nuclear Factor- κ B to Foster an Immunosuppressive Tumor Microenvironment in Ovarian Cancer. *Cancer Res.* 2015 Dec 1;75(23):5034-45. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3098. 査読有り

10) Horikawa N, Baba T, Matsumura N, Murakami R, Abiko K, Hamanishi J, Yamaguchi K, Koshiyama M, Yoshioka Y, Konishi I. Genomic profile predicts the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for cervical cancer patients. *BMC Cancer.* 2015 Oct 19;15:739. doi: 10.1186/s12885-015-1703-1. 査読有り

11) Mandai M, Amano Y, Yamaguchi K, Matsumura N, Baba T, Konishi I. Ovarian clear cell carcinoma meets metabolism; HNF-1 β confers survival benefits through the Warburg effect and ROS reduction. *Oncotarget.* 2015 Oct 13;6(31):30704-14. Review. doi: 10.18632/oncotarget.5228. 査読有り

12) Hamanishi J, Mandai M, Ikeda T, Minami M, Kawaguchi A, Murayama T, Kanai M, Mori Y, Matsumoto S, Chikuma S, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Ueda A, Hosoe Y, Morita S, Yokode M, Shimizu A, Honjo T, Konishi I. Safety and Antitumor Activity of Anti-PD-1 Antibody, Nivolumab, in Patients With Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *J Clin Oncol.* 2015 Dec 1;33(34):4015-22. doi: 10.1200/JCO.2015.62.3397. 査読有り

13) Amano Y, Mandai M, Yamaguchi K, Matsumura N, Kharma B, Baba T, Abiko K, Hamanishi J, Yoshioka Y, Konishi I. Metabolic alterations caused by HNF1 β expression in ovarian clear cell carcinoma contribute to cell survival. *Oncotarget.* 2015 Sep 22;6(28):26002-17. doi: 10.18632/oncotarget.4692. 査読有り

14) Matsuo K, Hasegawa K, Yoshino K, Murakami R, Hisamatsu T, Stone RL, Previs RA, Hansen JM, Ikeda Y, Miyara A, Hiramatsu K, Enomoto T, Fujiwara K, Matsumura N, Konishi I, Roman LD, Gabra H, Fotopoulou C, Sood AK. Venous thromboembolism, interleukin-6 and survival outcomes in patients with advanced ovarian clear cell carcinoma. *Eur J Cancer.* 2015 Sep;51(14):1978-88. doi: 10.1016/j.ejca.2015.07.012. 査読有り

15) Abiko K, Matsumura N, Hamanishi J, Horikawa N, Murakami R, Yamaguchi K,

Yoshioka Y, Baba T, Konishi I, Mandai M. IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer. *Br J Cancer.* 2015 Apr 28;112(9):1501-9. doi: 10.1038/bjc.2015.101. 査読有り

16) Okamoto A, Sehouli J, Yanaihara N, Hirata Y, Braicu I, Kim BG, Takakura S, Saito M, Yanagida S, Takenaka M, Yamaguchi N, Morikawa A, Tanabe H, Yamada K, Yoshihara K, Enomoto T, Itamochi H, Kigawa J, Matsumura N, Konishi I, Aida S, Aoki Y, Ishii N, Ochiai K, Akiyama T, Urashima M. Somatic copy number alterations associated with Japanese or endometriosis in ovarian clear cell adenocarcinoma. *PLoS One.* 2015 Feb 6;10(2):e0116977. doi: 10.1371/journal.pone.0116977. 査読有り

17) Fujii S, Kido A, Baba T, Fujimoto K, Daido S, Matsumura N, Konishi I, Togashi K. Subendometrial enhancement and peritumoral enhancement for assessing endometrial cancer on dynamic contrast enhanced MR imaging. *Eur J Radiol.* 2015 Apr;84(4):581-9. doi: 10.1016/j.ejrad.2015.01.004. 査読有り

18) Himoto Y, Kido A, Fujimoto K, Daido S, Kiguchi K, Shitano F, Baba T, Matsumura N, Konishi I, Togashi K. MR Imaging-based Evaluation of Morphological Changes in the Uterus and Ovaries of Patients Following Neoadjuvant Chemotherapy for Cervical Cancer. *Magn Reson Med Sci.* 2015;14(1):65-72. doi: 10.2463/mrms.2014-0025. 査読有り

19) Matsuo K, Yoshino K, Hasegawa K, Murakami R, Ikeda Y, Adachi S, Hiramatsu K, Yokoyama T, Nishimura M, Sheridan TB, Enomoto T, Fujiwara K, Matsumura N, Konishi I, Fotopoulou C, Roman LD, Sood AK. Survival outcome of stage I ovarian clear cell carcinoma with lympho-vascular space invasion. *Gynecol Oncol.* 2015 Feb;136(2):198-204. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.12.006. 査読有り

20) Nagura M, Matsumura N, Baba T, Murakami R, Kharma B, Hamanishi J, Yamaguchi K, Abiko K, Koshiyama M, Mandai M, Murata T, Murphy SK, Konishi I. Invasion of uterine cervical squamous cell carcinoma cells is facilitated by locoregional interaction with cancer-associated fibroblasts via activating transforming growth factor-beta. *Gynecol Oncol.* 2015 Jan;136(1):104-11. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.11.075. 査読有り

21) Okamoto T, Mandai M, Matsumura N, Yamaguchi K, Kondoh H, Amano Y, Baba T, Hamanishi J, Abiko K, Kosaka K, Murphy

SK, Mori S, Konishi I. Hepatocyte nuclear factor-1 β (HNF-1 β) promotes glucose uptake and glycolytic activity in ovarian clear cell carcinoma. *Mol Carcinog*. 2015 Jan;54(1):35-49. doi: 10.1002/mc.22072. 査読有り

22) Yamaguchi K, Matsumura N, Mandai M, Baba T, Konishi I, Murphy SK. Epigenetic and genetic dispositions of ovarian carcinomas. *Oncoscience*. 2014 Sep 22;1(9):574-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25594067> 査読有り

23) Nakakita B, Abiko K, Mikami Y, Kido A, Baba T, Yoshioka Y, Yamaguchi K, Matsumura N, Konishi I. Clear cell carcinoma arising from a uterus-like mass. *Pathol Int*. 2014 Nov;64(11):576-80. doi: 10.1111/pin.12218. 査読有り

24) Nagura M, Koshiyama M, Matsumura N, Kido A, Baba T, Abiko K, Hamanishi J, Yamaguchi K, Mikami Y, Konishi I Clinical approaches to treating papillary squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *BMC Cancer*. 2014 Oct 27;14:784. doi: 10.1186/1471-2407-14-784. 査読有り

25) Okamoto A, Glasspool RM, Mabuchi S, Matsumura N, Nomura H, Itamochi H, Takano M, Takano T, Susumu N, Aoki D, Konishi I, Covens A, Ledermann J, Mezzazanica D, Steer C, Millan D, McNeish IA, Pfisterer J, Kang S, Gladiett L, Bryce J, Oza A. Gynecologic Cancer InterGroup (GIG) consensus review for clear cell carcinoma of the ovary. *Int J Gynecol Cancer*. 2014 Nov;24(9 Suppl 3):S20-5. doi: 10.1097/IGC.0000000000000289. 査読有り

26) Kharma B, Baba T, Matsumura N, Kang HS, Hamanishi J, Murakami R, McConechy MM, Leung S, Yamaguchi K, Hosoe Y, Yoshioka Y, Murphy SK, Mandai M, Huntsman DG, Konishi I. STAT1 drives tumor progression in serous papillary endometrial cancer. *Cancer Res*. 2014 Nov 15;74(22):6519-30. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0847. 査読有り

27) Baba T, Kang HS, Hosoe Y, Kharma B, Abiko K, Matsumura N, Hamanishi J, Yamaguchi K, Yoshioka Y, Koshiyama M, Mandai M, Murphy SK, Konishi I. Menstrual cyclic change of metastin/GPR54 in endometrium. *Med Mol Morphol*. 2015 Jun;48(2):76-84. doi: 10.1007/s00795-014-0081-0. 査読有り

28) Koshiyama M, Matsumura N, Konishi I. Recent concepts of ovarian carcinogenesis: type I and type II. *Biomed Res Int*. 2014;2014:934261. (Review) doi: 10.1155/2014/934261. 査読有り

29) Himoto Y, Fujimoto K, Kido A, Matsumura N, Baba T, Daido S, Kiguchi K, Shitano F, Konishi I, Togashi K. Assessment of the Early Predictive Power of Quantitative Magnetic Resonance Imaging Parameters During Neoadjuvant Chemotherapy for Uterine Cervical Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2014 May;24(4):751-7. doi: 10.1097/IGC.0000000000000124. 査読有り

30) Fujii S, Kido A, Mikami Y, Matsumura N, Konishi I, Togashi K. Peritumoral enhancement in endometrial cancer on dynamic contrast-enhanced imaging: Radiologic-pathologic correlation. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014 May;40(5):1445-9. doi: 10.1111/jog.12318. 査読有り

31) Yamaguchi K, Huang Z, Matsumura N, Mandai M, Okamoto T, Baba T, Konishi I, Berchuck A, Murphy SK. Epigenetic determinants of ovarian clear cell carcinoma biology. *Int J Cancer*. 2014 Aug 1;135(3):585-97. doi: 10.1002/ijc.28701. 査読有り

32) Koshiyama M, Matsumura N, Baba T, Yamaguchi K, Yoshioka Y, Konishi I. Two cases of recurrent ovarian clear cell carcinoma treated with sorafenib. *Cancer Biol Ther*. 2014 Jan 1;15(1):22-5. doi: 10.4161/cbt.26608. 査読有り

33) Takamatsu S, Matsumura N, Baba T, Mandai M, Mikami Y, Konishi I. Humoral hypercalcemia caused by uterine corpus carcinosarcoma consisting of squamous cell carcinoma in its epithelial component. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014 Jan;40(1):263-7. doi: 10.1111/jog.12136. 査読有り

〔学会発表〕(計10件)

1) シンポジウム口演 “ Integrated analysis of single nucleotide variants and copy number variants in ovarian clear cell adenocarcinoma ” Noriomi Matsumura、Ryuusuke Murkami、Koichiro Higasa、Takanobu Tsutsumi、J. B. Brown、Junzo Hamanishi、Ken Yamaguchi、Kaoru Abiko、Tsukasa Baba、Masafumi Koshiyama、Ryo Yamada、Fumihiko Matsuda、Yasushi Okuno、Ikuo Konishi

2) シンポジウム口演「卵巣癌の微小免疫環境解析と抗PD-1抗体療法の展望」
濱西潤三、万代昌紀、松村謙臣、安彦郁、村上隆介、馬場長、山口建、小西郁生
上記2演題；第53回日本癌治療学会、平成27年10月29日～31日、国立京都国際会館、京都市

3) “ Identification through functional genomics screening of factors whose downregulation enhances the side population in ovarian cancer. ” Noriomi

Matsumura, Koji Yamanoi, Susan K Murphy, Junzo Hamanishi, Kaoru Abiko, Ken Yamaguchi, Tsukasa Baba, Masafumi Koshiyama, Ikuo Konishi

4) "Chemotherapy with PD-1 blockade and paclitaxel induce a potent antitumor immunity in ovarian cancers." Junzo Hamanishi, Jin Peng, Noriomi Matsumura, Kaoru Abiko, Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi, Ikuo Konishi, Masaki Mandai

5) "Inhibition of Snail-induced EMT promotes anti-tumor immune response in ovarian cancer" Mana Taki, Kaoru Abiko, Noriomi Matsumura, Tsukasa Baba, Junzo Hamanishi, Naoki Horikawa, Ikuo Konishi

6) "Expression of VEGF in ovarian cancer suppresses tumor immunity through recruitment of myeloid derived suppressor cells" Naoki Horikawa, Kaoru Abiko, Noriomi Matsumura, Junzo Hamanishi, Susan K Murphy, Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi, Masafumi Koshiyama, Ikuo Konishi

以上4演題; An AACR Special Conference on Advances in Ovarian Cancer Research, Oct 17-20, 2015, Hyatt Regency Orlando, Orlando, FL

7) シンポジウム英語口演 "Survival and Durable Tumor Remission in Patients with Platinum-resistant Ovarian Cancer Receiving Nivolumab" Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Noriomi Matsumura, Kaoru Abiko, Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi, Ikuo Konishi

第74回日本学会学術総会、平成27年10月8日~10日、名古屋国際会議場、名古屋市

8) シンポジウム英語口演 "Genomic Alterations of Ovarian Clear Cell Carcinoma" 松村謙臣、村上隆介、日笠幸一郎、堤孝信、J.B. Brown、Hisham Abou-Taleb、濱西潤三、山口建、安彦郁、馬場長、越山雅文、山田亮、松田文彦、奥野恭史、小西郁生
第57回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 平成27年8月7日~9日、アイーナいわて県民情報交流センター・マリオス盛岡地域交流センター、盛岡市

9) シンポジウム口演 "Immune checkpoint PD-1 signal; the metastatic promotion of ovarian cancer and the target of new treatment strategy" 濱西潤三、万代昌紀、松村謙臣、安彦郁、Jin Peng、馬場長、山口建、小西郁生

第73回日本癌学会学術総会、H26年9月25日~27日、パシフィコ横浜、横浜市

10) "HNF1B contributes to resistance to oxidative stress through modification of metabolism in ovarian clear cell carcinoma." K. Yamaguchi, Y. Amano, N. Matsumura, M. Mandai, K. Abiko, J. Hamanishi, Y. Yoshioka, T. Baba, I. Konishi 45th Annual Meeting on Women's

Cancer, 2014/3/22-3/25, Tampa convention center, Tampa, FL, USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕出願状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三瀬 裕子 (Hiroko Mise)
京都大学医学研究科器官外科学・婦人科学
産科学・非常勤講師
研究者番号: 90725607

(2) 研究分担者

松村 謙臣 (Noriomi Matsumura)
京都大学医学研究科器官外科学・婦人科学
産科学・准教授
研究者番号: 20452336

小西 郁生 (Ikuo Konishi)
京都大学医学研究科器官外科学・婦人科学
産科学・名誉教授
研究者番号: 90192062