

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（業務項目）

卵巣癌治療後のプラチナ製剤の薬剤耐性と感受性の研究

担当責任者 高野忠夫 臨床研究推進センター 特任教授

#### 研究要旨

本研究では、再発卵巣癌を有する患者において、無治療期間（TFI）および組織型ごとに白金感受性の程度を調査した。対象は完全寛解後に再発した107人の患者を含むIII/IV期卵巣癌と診断された405人の患者。プラチナ感受性の程度は、セカンドライン治療後の無増悪生存期間（PFS）を比較することによって評価した。プラチナ再発で治療した漿液性/類内膜腺癌の患者では、患者の次のグループの間でPFSに有意差があった：6ヶ月と6-12ヶ月、6-12ヶ月と12-18ヶ月、12-18ヶ月と18ヶ月後の再発。

一方、プラチナ再発で治療した明細胞/粘液性腺癌の患者では、6ヶ月以内と6-12ヶ月、6-12ヶ月と12ヶ月後との間に有意差を認めなかった。12ヶ月後に再発した患者では、明細胞/粘液性腺癌のPFSは漿液性/類内膜腺癌と比較して有意に短かった。

これらの結果から、我々は明細胞/粘液性腺癌では、12カ月以内の再発をプラチナ抵抗性、12ヶ月後の再発をプラチナ感受性と分類するのが良いと考えた。

#### A. 研究目的

病理組織型によりプラチナ抵抗性再発、プラチナ感受性再発の定義が異なるかどうかについて調査すること

#### B. 研究方法

東北6大学病院産婦人科で手術を行った上皮性卵巣癌患者747例（倫理面への配慮）

カルテ、病理スライドを用いた観察研究で、連結可能匿名化を行い、倫理審査委員会の承認を得た。HPに研究要旨を公開し、研究参加拒否の機会を確保した。

#### C. 研究結果

プラチナ再発で治療した漿液性/類内膜腺癌の患者では、患者の次のグループの間でPFSに有意差があった：6ヶ月と

6-12ヶ月、6-12ヶ月と12-18ヶ月、12-18ヶ月と18ヶ月後の再発。

一方、プラチナ再発で治療した明細胞/粘液性腺癌の患者では、6ヶ月以内と6-12ヶ月、6-12ヶ月と12ヶ月後との間に有意差を認めなかった。12ヶ月後に再発した患者では、明細胞/粘液性腺癌のPFSは漿液性/類内膜腺癌と比較して有意に短かった。

#### D. 考察

漿液性/類内膜腺癌では6ヶ月以内をプラチナ抵抗性、6-12ヶ月以内を比較的プラチナ抵抗性、12ヶ月以上をプラチナ感受性と分類できる。今回の結果より明細胞/粘液性腺癌では比較的プラチナ抵抗性という分類は当てはまらず、12ヶ月以内の再発はすべてプラチナ抵抗性である

ことがわかった。

#### E. 結論

明細胞/粘液性腺癌では、12 カ月以内の再発をプラチナ抵抗性、12 ヶ月後の再発をプラチナ感受性と分類することができる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yokoyama Y, Takano T, et al. Redistribution of resistance and sensitivity to platinum during the observation period following treatment of epithelial ovarian cancer. Mol Clin Oncol, 2014, 2(2):212-218.

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

卵巣明細胞腺癌における X-chromosome-linked inhibitor  
of apoptosis (XIAP) 蛋白発現の意義

担当責任者	高野政志	防衛医科大学学校病院腫瘍化学療法部	部長	准教授
研究協力者	後藤友子	防衛医科大学学校病院産科婦人科	講師	
	平田純子	防衛医科大学学校産科婦人科学	助教	
	加藤雅史	防衛医科大学学校産科婦人科学	非常勤医師	
	宮本守員	防衛医科大学学校産科婦人科学	助教	
	鈴木亜矢子	防衛医科大学学校産科婦人科学	技官	
	青山 真	防衛医科大学学校産科婦人科学	通修医	
	澁谷剛志	防衛医科大学学校産科婦人科学	専門研修医	
	松浦寛子	防衛医科大学学校産科婦人科学	専門研修医	

研究要旨

当院で過去 20 年間に治療をうけた明細胞腺癌症例 90 例において、原発巣の蛋白発現を免疫組織染色で検討し、化学療法の奏効度、予後と比較検討した。XIAP 高発現群 (n=30, 33%) は有意に抗がん剤感受性が低く、Stage II-IV 症例においては無増悪生存、全生存期間ともに有意に予後不良であった。さらに明細胞腺癌患者から樹立した細胞株においても XIAP 発現を低下させることでシスプラチンの感受性を高めることが確認できた。卵巣明細胞腺癌において XIAP 発現は抗がん剤感受性のみならず、予後も規定することが判明した。今後の標的治療のターゲットとして XIAP は候補となることが示唆された。

A. 研究目的

卵巣癌は多くの組織型があるが、中でも明細胞腺癌は抗癌剤が奏効しにくいこと、進行例は予後不良であること等の特徴があるため、他の組織型とは区別して考えることが重要であろうと言われて久しい。

一方、X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) は種々の癌腫で高発現していることが報告させてきている (Lacasse et al, Oncogene 1998; 17: 3247- 3259; Tamm et al, Clin Cancer Res 2000; 6: 1796- 1803; Yang et al, Cancer Res 2003; 63: 6815- 6824)。卵巣癌細胞株においても

XIAP蛋白がシスプラチンの感受性を規定する因子であることを示す報告もなされた

(Sasaki et al. Cancer Res 2000; 60: 5659 - 5666)。婦人科癌のなかでも抗がん剤抵抗性を示す卵巣明細胞腺癌において XIAP 発現がどのような臨床病理学的意義をもつかを当院での治療例の解析から検討することを目的とした。

また、卵巣明細胞腺癌由来の細胞株において XIAP 発現とシスプラチンの感受性についても解析した。

## B. 研究方法

1984年から2008年までに当院で初回治療を行った卵巣明細胞腺癌症例のカルテからChart reviewを行い、臨床情報を得た。また、初回手術での摘出した原発巣のパラフィン包埋組織を用いてTissue microarray (TMA)を作成した。評価可能であった90例を対象とした。

免疫組織化学染色にはc-Met、XIAP、Phospho-Akt、Bcl-XLに対する抗体を用いて行った。染色強度はnegative (-), moderate (1+) or strong (2+)で判定した。

臨床情報相関性はカイ二乗検定、あるいはFisher's exact testで行った。累積生存率はKaplan-Meier法で産出し、Log-rank検定で有意差の有無を検討した。p<0.05を統計学的有意と定義した。

(倫理面への配慮)

全ての研究者は、ヘルシンキ宣言に従い研究をすすめた。患者のデータファイルは連結不可能匿名化されて入力され、予後因子を解析するコンピューターは外部と接続されていないものを使用した。全ての予後解析は防衛医大産科婦人科において行なわれたが、個人情報保護に努め外部への漏洩はない。病理判定を行なう際には連結可能匿名化された上で病理スライドが防衛医大に集積され、連結可能匿名化の対応表は各施設の個人情報管理者が管理し病理判定する者には知らされていない。

## C. 研究結果

解析可能であった患者の数は90名であった。腫瘍組織でのXIAP蛋白発現が高いと判断された患者は30名(33%)であった。XIAP蛋白の発現程度によって2群間に分けた臨床病理学的因子の内容を表1に示す。

表1 XIAP発現の程度別患者背景

Clinicopathological variables	Number (%)	XIAP high	XIAP low	P-value
<b>Age at diagnosis (years)</b>				
<50	35 (39%)	15 (50%)	20 (33%)	0.13
≥50	55 (61%)	15 (50%)	40 (67%)	
<b>WHO performance status</b>				
0/1	86 (96%)	28 (93%)	58 (97%)	0.47
≥2	4 (4%)	2 (7%)	2 (3%)	
<b>FIGO stage</b>				
I	46 (51%)	12 (40%)	34 (57%)	0.26
II	9 (10%)	2 (7%)	7 (12%)	
III	31 (35%)	14 (46%)	17 (28%)	
IV	4 (4%)	2 (7%)	2 (3%)	
<b>Residual tumour diameter</b>				
None	63 (70%)	19 (63%)	44 (73%)	0.62
≤1 cm	10 (11%)	4 (14%)	6 (10%)	
>1 cm	17 (19%)	7 (23%)	10 (17%)	
<b>c-Met</b>				
High	31 (34%)	16 (53%)	15 (25%)	<0.01
Low	59 (66%)	14 (47%)	45 (75%)	
<b>p-Akt</b>				
High	23 (26%)	10 (33%)	13 (22%)	0.23
Low	67 (74%)	20 (67%)	47 (78%)	
<b>Bcl-XL</b>				
High	33 (37%)	17 (57%)	16 (27%)	<0.01
Low	57 (63%)	13 (43%)	44 (73%)	
Abbreviations: FIGO=International Federation of Obstetrics and Gynecology; WHO=World Health Organisation; XIAP=X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis.				

XIAP蛋白の高発現を認めた腫瘍組織においてはc-Met蛋白、ならびにBcl-XL蛋白も高発現であり、正の相関を認めた。

まずは、StageI症例におけるXIAP蛋白発現の意義を検討した。46例のStageI症例のXIAP発現の程度別の患者背景を表2に示す。両群間に臨床病理学的に大きな偏りはなかった。

表2 StageI症例のXIAP発現の程度別患者背景

Variables	XIAP expression		p-value
	High (n=12)	Low (n=34)	
Age	51(38-72)	52(35-69)	0.95
Median (range)			
WHO physical status			0.99
0/1	12(100%)	33(97%)	
≥2	0(0%)	1(3%)	
FIGO stage			0.72
Ia	4(33%)	9(26%)	
Ic	8(67%)	25(74%)	
Chemotherapy			0.99
done	11(92%)	31(91%)	
not done	1(8%)	3(9%)	
Abbreviations: FIGO=International Federation of Obstetrics and Gynecology; XIAP=X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis.			

StageI症例のXIAP発現の程度別の無増

悪生存期間 (Progression-free survival, PFS)、ならびに全生存期間 (Overall survival, OS) を図 1A、1B に示す。PFS、OS ともに両群間に有意な差異は認めなかった。

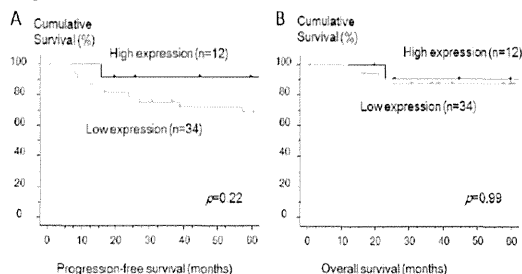


図 1 XIAP 発現の程度別の無増悪生存期間ならびに全生存期間 (Stage I 症例)

続いて、StageII-IV 症例の検討を行った。残存腫瘍を有し、初回化学療法の奏効度が判定可能であった 27 例において奏効した群と奏効しなかった群で XIAP、c-Met、Phospho-Akt、Bcl-XL 蛋白発現を比較検討した。結果を表 3 に示す。

表 3 XIAP、c-Met、Phospho-Akt、Bcl-XL 蛋白発現と初回化学療法の奏効との関連

Proteins	Expression level	Number of the patients	Responders <sup>a</sup> (n=10)	Non-responders <sup>b</sup> (n=17)	P-value
XIAP	High	12	1 (10%)	11 (65%)	0.02
	Low	15	9 (60%)	6 (35%)	
c-Met	High	11	2 (20%)	9 (53%)	0.20
	Low	16	8 (50%)	8 (47%)	
p-Akt	High	6	0 (0%)	6 (35%)	0.10
	Low	21	10 (100%)	11 (65%)	
Bcl-XL	High	10	2 (20%)	8 (47%)	0.22
	Low	17	8 (80%)	9 (53%)	

<sup>a</sup>Abbreviations: CR=complete response, PD=progressive disease, PR=partial response, SD=stable disease, XIAP=X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis  
<sup>b</sup>The patients with CR and PR  
<sup>c</sup>The patients with SD and PD

初回化学療法の効果が CR、PR であった群を Responders、SD/PD であった群を Non-responders に分けて解析したところ、XIAP 発現の程度のみが有意に奏効度と関連していた。

次に StageII-IV 症例の予後解析を行った。表 4 に XIAP 発現別の患者背景を示す。両群間に臨床病理学的に大きな偏りはなかった。

表 4 StageII-IV 症例の XIAP 発現の程度別患者背景

Variables	XIAP expression		p-value
	High (n=18)	Low (n=26)	
Age			0.50
Median (range)	50(42-66)	53(37-69)	
WHO physical status			0.79
0/1	17(94%)	25(96%)	
≥2	1(6%)	1(4%)	
FIGO Stage			0.20
II	2(11%)	7(27%)	
III/IV	16(89%)	19(73%)	
Residual tumor diameter			0.98
≤1cm	11(61%)	16(62%)	
>1cm	7(39%)	10(38%)	

Abbreviations: FIGO=International Federation of Obstetrics and Gynecology; XIAP=X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis

図 2 に StageII-IV 症例の XIAP 発現の程度別の無増悪生存期間 (Progression-free survival, PFS)、ならびに全生存期間 (Overall survival, OS) を示す。PFS、OS ともに XIAP 高発現群は有意に予後不良であった。

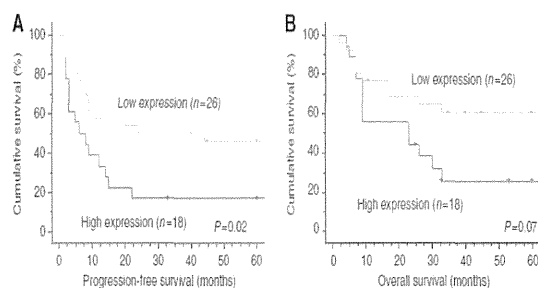


図 2 XIAP 発現の程度別の無増悪生存期間ならびに全生存期間 (Stage II-IV 症例)

最後に StageII-IV 症例における予後についての多変量解析結果を表 5 に示す。

Variables	Progression-free survival		Overall survival		
	Hazard ratio (95% CI)	P-value	Hazard ratio (95% CI)	P-value	
Age	<50 vs >50	0.75 (0.32-1.76)	0.51	0.55 (0.20-1.46)	0.23
WHO performance status	0/1 vs ≥2	0.74 (0.14-3.79)	0.71	0.58 (0.11-2.95)	0.51
FIGO stage	II vs III/IV	0.58 (0.19-1.77)	0.37	0.60 (0.16-2.22)	0.44
Residual tumour diameter	>1cm vs ≤1cm	3.48 (1.40-8.62)	<0.01	5.35 (1.09-15.0)	<0.01
XIAP expression	High vs low	2.94 (1.22-7.09)	0.02	2.70 (1.02-7.16)	0.04

Abbreviations: CI=confidence interval, FIGO=International Federation of Obstetrics and Gynecology, WHO=World Health Organization, XIAP=X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis

表 5 StageII-IV 症例の無増悪生存、ならびに全生存に対する多変量解析

無増悪生存に寄与する独立因子は残存腫瘍径と XIAP 発現が、全生存に寄与する

独立因子でも残存腫瘍径と XIAP 発現の 2 因子が抽出された。

#### D. 考察

今回の検討では卵巣明細胞腺癌の 33% が XIAP 蛋白陽性と判定された。以前の報告では卵巣漿液性腺癌症例で 85% の陽性率 (Bu et al. Lab Invest 2011; 91: 124 - 137) であったので、漿液性腺癌よりも明細胞腺癌は XIAP 蛋白発現の陽性率は低いことが示唆される。

今回の検討では XIAP 蛋白発現の程度は年齢、WHO PS, FIGO stage、残存腫瘍径に左右されなかった。その一方、XIAP 発現増強は有意に初回化学療法の抵抗性と関連していた。他癌腫でも抗癌剤の抵抗性と関連するとの報告も散見されるため、XIAP が抗癌剤感受性の Key factor である癌腫が他にも存在することを示唆している (Schimmer et al, Cell Death Differ 2006; 13: 179- 188; Yang et al, PLoS One 2012; 7: e31601)。

今回の検討では XIAP 発現と c-Met 発現の相関性を認めているものの、phospho-Akt (Ser 473) 発現との相関性は認められなかった。HGF/c-Met/XIAP pathway を抑える薬剤等を用いることで抗癌剤感受性を変化させ、明細胞腺癌の治療を劇的に変貌させる可能性が示された。

#### E. 結論

今後さらなる検討が必要ではあるが、今回の検討から卵巣明細胞腺癌において XIAP 発現が抗癌剤感受性を規定すること、ならびに PFS、OS にも独立予後因子として寄与していることが示された。XIAP 発現は卵巣明細胞腺癌治療の標的になる可能性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Harano K, Katsumata N, Takano M, Sugiyama T, et al. Quality-of-life outcomes from a randomized phase III trial of dose-dense weekly paclitaxel and carboplatin compared with conventional paclitaxel and carboplatin as a first-line treatment for stage II-IV ovarian cancer: Japanese Gynecologic Oncology Group Trial (JGOG3016). Ann Oncol, 2014, 25(1): 251-257.
2. Kato M, Takano M, et al. DNA mismatch repair-related protein loss as a prognostic factor in endometrial cancers. J Gynecol Oncol, 2015, 26(1): 40-45.
3. Fujiwara H, Takano M, et al. Evaluation of Endometrial Cytology: Cytohistological Correlations in 1,441 Cancer Patients. Oncology, 2015, 88(2): 86-94.
4. Okamoto A, Takano M, et al. Gynecologic Cancer InterGroup (GCIg) Consensus Review for Clear Cell Carcinoma of the Ovary. Int J Gynecol Cancer, 2014, (9 Supple 3): S20-S25.
5. Takehisa N, Takano M, et al. Efficacy and safety of triple therapy with aprepitant, palonosetron, and dexamethasone for preventing nausea and vomiting induced by cisplatin-based chemotherapy for gynecological cancer: KCOG trial. Support Care Cancer, 2014, 22(11): 2891-2998.
6. Iguchi Y, Takano M, et al. Simultaneous analysis of the gene expression profiles of cancer and stromal cells in endometrial cancer. Genes Chromosomes Cancer, 2014, 53(9): 725-737.

7. Miyamoto M, Takano M, et al. X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis as a key factor for chemoresistance in clear cell carcinoma of the ovary. *Brit J Cancer*, 2014, 110(12): 2881-2886.
  8. Satoh T, Takano M, Yokota H, Saito T, Yoshikawa H, et al. Administration of standard-dose BEP regimen (bleomycin + etoposide + cisplatin) is essential for treatment of ovarian yolk sac tumor. *Eur J Cancer*. 2015, 51(3): 340-351.
  9. Iwate R, Takano M, et al. High expression of SQSTM1/p62 protein is associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer. *Acta Histochemica et Cytologica*, 2014, 47(6):295-301.
  10. Miyamoto M, Takano M, et al. High-temperature-required protein A2 as a predictive marker for response to chemotherapy and prognosis in patients with high-grade serous ovarian cancers. *Brit J Cancer*, in press.
  11. Kitagawa R, Ushijima K, Takano M, Satoh T, and Yoshikawa H, et al. Paclitaxel plus Carboplatin Versus Paclitaxel plus Cisplatin in Metastatic or Recurrent Cervical Cancer: The Open-Label Randomized Phase III Trial (JCOG0505), JCO. in press
  12. Sasa H, Takano M, et al. Uterine artery embolization and methotrexate administration for conservative management of advanced interstitial pregnancy: a case report. *防衛医科大学校雑誌*; 2014: 39(3): 209-214,
  13. 河野哲也、高野政志、他:「子宮頸部扁平上皮病変の集塊の見方」 *埼玉県臨床細胞学会誌* 2014; 32:92-95.
  14. 三升畑菜穂、高野政志、他:「子宮頸部扁平上皮病変の集塊の見方 -症例検討解説-」 *埼玉県臨床細胞学会誌* 2014; 32: 96-98.
  15. 坂元崇洋、高野政志、他:「子宮頸部腺癌との鑑別を必要とした異所性子宮癌肉腫の1例」 *埼玉県医学会雑誌* 2014; 49(1):347-351.
  16. 中西篤史、高野政志、他:「横紋筋芽細胞様の腫瘍細胞が認められた異所性子宮癌肉腫の1例」 *埼玉県臨床細胞学会誌* 2014; 32(1):34-38.
  17. 喜多恒和、高野政志、他:「HIV感染妊婦とその児に関する臨床データの集積およびHIV感染妊婦データの解析」平成25年度厚生労働科学研究補助金エイズ対策研究事業「HIV母子の疫学調査と予防対策および女性・小児感染者支援に関する研究」班(H24-エイズ-一般-002)平成25年度総括・分担研究報告書.平成25年度厚生労働科学研究補助金エイズ対策研究事業(H24-エイズ-一般-002)、平成25年度総括・分担研究報告書 2014; 30-76.
  18. 松浦寛子、高野政志、他:「血管閉塞用バルーンカテーテル併用により腫瘍摘出術を行った深部静脈血栓合併卵巣明細胞腺癌の一例」 *日本婦人科腫瘍学会雑誌*、2014; 32(1):54-59.
  19. 青山 真、高野政志、他:「再発卵巣癌に対するリポソーム化ドキシソルビン投与後のCA125の変動と奏効度の関連性」 *日本婦人科腫瘍学会雑誌*, 印刷中
  20. 高崎和樹、高野政志、他:「子宮体癌術後のpaclitaxel/carboplatin投与中にIntensive care unit-acquired weaknessを発症した1例」 *日本婦人科腫瘍学会雑誌*, 印刷中.
2. 学会発表  
(特別講演、シンポジウム、ワークショップ)

ップ等)

1. 高野政志. 卵巣明細胞腺がんに対する“temsirolimus, trabectedin”の効果. 第1回未承認薬研究会学術集会 2014年5月16日, 東京.
2. 高野政志、勝俣範之. 「卵巣がん治療ガイドライン2014 コンセンサスマーケティング CQ 初回化学療法もしくは再発症例に対して治療薬として推奨される分子標的治療薬はあるか?」第56回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7月17日-19日, 2014. 栃木
3. 高野政志. Opening Remarks 「婦人科がんと血管新生」第1回婦人科腫瘍カンファレンス in Kawagoe 2014年10月7日, 川越.
4. 高野政志. 頸部浸潤症例に対する子宮摘出術式「子宮体がんに対する手術—頸部に浸潤を疑う症例への対応—」第1回日本婦人科腫瘍学会研修会 2014年12月6日, 東京.
5. 高野政志. GOTIC-005 研究 結果報告. 第18回GOTIC教育セミナー、2014年10月18日, 大宮.
6. 高野政志、吉川裕之、佐藤豊実、他. シンポジウム1子宮体癌の標準的治療とは「頸部浸潤を疑う子宮体癌に対する広汎子宮全摘術の必要性:COTIC-005 後方視的多施設検討」第56回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7月17日-19日, 2014. 栃木
7. 高野政志. 細胞が語りかけるもの=臨床・病理・細胞の接点 2-婦人科 臨床・病理・細胞診断のずれを臨床側から判断する. 第55回日本臨床細胞学会総会(春季大会) 2014年6月6日-7日, 横浜

(一般演題)

1. Ikeda Y, Takano M, et al. Weekly administration of bevacizumab, eribulin and oxalilplatin in patients with platinum-resistant

and refractory ovarian carcinomas: a phase II study. 50th Annual Meeting of American Society Of Clinical Oncology, May 30-June 3, 2014, Chicago, Illinois

2. Sasaki N, Takano M, et al. Weekly temozolomide plus bevacizumab in patients with recurrent uterine leiomyosarcoma: a phase II study. The 50th Annual Meeting of American Society Of Clinical Oncology, May 30-June 3, 2014, Chicago, Illinois
3. Takano M, et al. Combination chemotherapy with temsirolimus and trabectedin for recurrent clear cell carcinoma of the ovary: a phase II single arm clinical trial. 50th Annual Meeting of American Society Of Clinical Oncology, May 30-June 3, 2014, Chicago, Illinois
4. Onda T, Yoshikawa H, Satoh T, Saito T, Nogawa T, Ushijima K, Takano T, Kawana K, Yokota H, Takano M, Takeshima N, et al, Japan Clinical Oncology Group. Comparison of treatment invasiveness between upfront debulking surgery versus interval debulking surgery following neoadjuvant chemotherapy for stage III/IV ovarian, tubal, and peritoneal cancers in phase III randomized trial: JCOG0602. ASCO 2014, 50th Annual Meeting of American Society Of Clinical Oncology, May 30-June 3, 2014, Chicago, Illinois.
5. Takano M, et al. COMBINATION THERAPY WITH BEVACIZUMAB AND GEMOX FOR PATIENTS WITH RECURRENT OVARIAN CANCERS: A PHASE II STUDY. The 15th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society November 8-11, 2014, Melbourne, Australia.



6. Takano M, et al. IS GENOTYPING OF UGT1A1 REALLY NEEDED FOR GYNECOLOGIC CANCER PATIENTS TREATED WITH IRINOTECAN-BASED CHEMOTHERAPY. The 15th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society November 8-11, 2014, Melbourne, Australia,
7. Goto T, Takano M, et al. A ROLE OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY (NAC) FOR ADVANCED ENDOMETRIAL CANCER (EC) IN COMPARISON WITH ADVANCED OVARIAN CANCER (OC). The 15th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society November 8-11, 2014, Melbourne, Australia,
8. Sasa H, Takano M, et al. Diagnosis and management of pregnant and postpartum women with cervical intraepithelial neoplasia. The 21st Thai-Japanese Workshop in Diagnostic Cytopathology, (2014, Chaing Mai, Thailand)
9. 坂元崇洋、高野政志、他:「子宮頸部腺癌との鑑別を必要とした異所性子宮癌肉腫の1例」第51回埼玉県医学会、2014年2月23日、さいたま市
10. 夏山貴博、高野政志、他. 帝王切開癒痕部妊娠の保存療法. 第59回防衛衛生学会、(2014, 東京)
11. 加藤顕人、高野政志、他:「再発卵巣明細胞腺癌に対する temsirolimus と trabectedin 併用療法の効果」第13回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会、2014年3月14日-15日、米子
12. 石橋弘樹、高野政志、他:「再発子宮へ平滑筋肉腫に対するベバシズマブとテモゾロミド併用療法の治療効果」第13回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会 2014年3月14日-15日、米子
13. 笹 秀典、高野政志、他:「胞状奇胎後の化学療法例」第60回防衛衛生学会 2015年2月6日、東京.
14. 笹 秀典、高野政志、他:「異型腺細胞 (AGC) の取り扱い? 当院における AGC 症例の検討から」第52回埼玉県医学会 2014年2月22日、さいたま市
15. 佐々木直樹、高野政志、他:「再発子宮平滑筋肉腫に対するベバシズマブとテモゾロミド併用療法の治療効果」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
16. 加藤雅史、高野政志、他:「卵巣癌における癌幹細胞様性質と予後との関連についての検討」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
17. 宮本守員、高野政志、他:「XIAP は卵巣明細胞腺癌の治療 target になりうる」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
18. 喜多恒和、高野政志、他:「わが国における HIV 感染妊婦の近年の増加」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
19. 田中英雄、高野政志、他:「マルチトランスフェクションプレートを用いた上皮性卵巣癌の新規分子標的の探索」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
20. 渋谷剛志、高野政志、他:「Uterine Vascular leiomyoma の1例」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
21. 松浦寛子、高野政志、他:「再発卵巣明細胞腺癌に対する temsirolimus, trabectedin 併用療法の効果 - a preliminary case series -」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日. 2014. 東京
22. Goto T, Takano M, et al. A role of

- neoadjuvant chemotherapy (NAC) for advanced endometrial carcinoma (EC) in comparison with ovarian carcinoma (OC). 66th Annual Congress of the Japan Society of obstetrics and gynecology, April 18th - 20th, 2014, Tokyo.
23. 青山 真、高野政志、他:「当院におけるノギテカン 14 例の使用経験」第 66 回日本産科婦人科学会学術講演会 4 月 18 日-20 日, 2014. 東京
  24. 加藤雅史、高野政志、他:「卵巣癌における癌幹細胞様性質と予後との関連についての検討」第 56 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7 月 17 日-19 日, 2014. 栃木
  25. 後藤友子、高野政志、他:「進行子宮体癌における術前化学療法(NAC)の卵巣癌との比較検討」第 56 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7 月 17 日-19 日, 2014. 栃木
  26. 松浦寛子、高野政志、他:「悪性転化を伴う成熟奇形種の肝転移対して定位放射線照射及び TC 療法で寛解を得た 1 症例」第 56 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7 月 17 日-19 日, 2014. 栃木
  27. 宮本守員、高野政志、他:「セリンプロテアーゼである HtrA2 は卵巣漿液性腺癌において化学療法の奏効及び予後のマーカーとなる」第 56 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7 月 17 日-19 日, 2014. 栃木
  28. 渋谷剛志、高野政志、他:「再発 Mullerian carcinoma に対するゲムシタピンとノギテカン-当院の使用状況-」第 56 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7 月 17 日-19 日, 2014. 栃木
  29. 曾山浩明、高野政志、他:「病理症例検討会 2 Endometrial dedifferentiated endometrioidadenocarcinoma の 1 症例」第 56 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7 月 17 日-19 日, 2014. 栃木
  30. 笹 秀典、高野政志、他:「子宮頸部上皮内腫瘍合併妊婦の管理について」第 55 回日本臨床細胞学会 2014 年 6 月 6 日-7 日, 横浜.
  31. 高野政志、他:「再発卵巣癌に対する Bevacizumab と GEMOX 併用療法の効果」第 52 回日本癌治療学会学術集会 (2014, 仙台)
  32. 後藤友子、高野政志、他:「進行子宮体癌の術前化学療法(NAC)についての卵巣癌との比較検討」第 52 回日本癌治療学会学術集会 2014 年 8 月 28-30 日, 仙台.
  33. 桑原美佳、高野政志、他:「胞状奇胎後に化学療法を行った症例の検討」第 128 回関東連合産科婦人科学会 2014 年 10 月 25 日-26 日, 松本.
  34. 鈴木亜矢子、高野政志、他:「子宮頸部病変における肺異形成遺伝子の免疫組織化学染色に関する検討」第 53 回日本臨床細胞学会秋期大会 2014 年 11 月 8 日-9 日, 下関市
  35. 喜多恒和、高野政志、他:「わが国における HIV 感染妊娠 857 例の臨床疫学的検討」第 28 回日本エイズ学会学術集会 2014 年 12 月 3 日-5 日, 大阪
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（業務項目）

卵巣癌における化学療法中の腹腔内細胞診の診断的意義に関する検討

担当責任者 川名 敬 東京大学大学院医学系研究科産婦人科学講座 准教授

#### 研究要旨

上皮性卵巣癌初回治療における予後マーカーとして腹腔内細胞診の有用性を検討することを目的とした。腹腔内進展している T3c 症例を対象とし、化学療法中の Interval Surgery (IS) で得られた腹腔内細胞診と予後との関連を調べた。東大病院で初回治療を行った T3c 期 50 例について IS に関連する因子と無増悪生存期間の関連を検討したところ、手術完遂度、IS 時腹腔内細胞診（洗浄と擦過）、IS 前 CA125 値が単変量解析にて、予後因子として抽出された。これらの因子につき多変量解析を行ったところ、IS 時腹腔内細胞診が独立予後因子になった。 Kaplan-Meier 曲線においても、全生存期間、無増悪生存期間ともに腹腔内細胞診陽性が有意に予後不良であった。上皮性卵巣癌の妊孕性温存治療において、腹腔内細胞診の検索を行うことの意義を裏付ける結果と考えられた。

#### A. 研究目的

本研究班では、上皮性卵巣癌の妊孕性温存治療の対象拡大のための非ランダム化検証的試験を実施中である。同試験において開腹による staging は最も重要なステップであり、腹腔内所見の評価の 1 つとして、腹腔内細胞診検査は有用な可能性がある。片側卵巣に限局した上皮性卵巣癌でも、腹腔内細胞診が癌細胞陽性の場合 IC 期 (pT1c1) となり、up-stage される。IC 期における妊孕性温存治療の可否は未だ議論の余地がある。

腹腔内細胞診検査は、腹腔内洗浄細胞診と腹腔内部位別の擦過細胞診がある。上皮性卵巣癌の腹腔内進展のマーカーとして、腹腔内細胞診の精度および予後検討は、重要な基礎データとなる。

本研究では、腹腔内進展が明らかな T3c 症例を対象として、腹腔内細胞診の有用性を検討することを目的とした。また本研究では、腹腔内細胞診の採取法として、洗浄細胞診と擦過細胞診の比較も行うこととした。

#### B. 研究方法

1996-2010 年に当科で初回治療中に Interval surgery (IS) を施行した卵巣癌 T3c の 50 例（追跡期間中央値 45.9 か月、術前化学療法 (NAC) 先行 17 例・初回手術あり (primary debulking surgery: PDS : 33 例) を対象とした。年齢の中央値は 61.1 才、追跡期間の中央値は 45.9 か月であった。FIGO 進行期は、IIIc 期 36 例、IV 期 14 例であり、組織型は high-grade serous/Endometrioid が 37 例、clear cell/mucinous, low-grade serous が 13 例であった。IS 前の化学療法レジメンは全例 TC であり、そのうち 30% が 4 コース施行されていた。化学療法としては、CAP (cyclophosphamide, 400-600mg/m<sup>2</sup>, and doxorubicin, 30-40mg/m<sup>2</sup>, every 3 weeks with cisplatin, 50-75mg/m<sup>2</sup>)、conventional TC (paclitaxel 175mg/m<sup>2</sup>, carboplatin AUC6.0)、weekly TC (paclitaxel 60mg/m<sup>2</sup> and carboplatin AUC2.0, on days 1, 8, and 15)、dose dense weekly TC (paclitaxel at 80 mg/m<sup>2</sup> on days 1, 8, and 15 and carboplatin AUC6.0) の

いずれかを施行した。PDS としては両側付属器切除+大網切除を基本とし、症例により単純子宮全摘術を追加した。

IS 時には、単純子宮全摘術、両側付属器切除術、大網切除、播種切除術を基本とし、加えて腹腔内完全切除しえた症例に対しては系統的骨盤・傍大動脈リンパ節郭清を加えた。

50 例全例に対して、腹腔内細胞診検査として、洗浄細胞診と擦過細胞診を実施した。IS 時に採取する腹腔内細胞診としては、腹腔内洗浄細胞診として骨盤内を生食 50ml で洗浄し回収した。腹水がある場合は腹水で代用した。部位別の腹腔内擦過細胞診として、膀胱子宮窩、ダグラス窩、左右傍結腸溝、右横隔膜下の 5 か所から綿棒を用いて擦過細胞を採取した。

全生存期間(OS)、無増悪期間(PFS)に関連する予後因子を検討した。因子としては、年齢、組織型、IS 時最大腫瘍径、IS 時腫瘍個数、IS 時 CA125 値、PDS 有 vs NAC、IS 時腹腔内細胞診、IS 完遂度：完全切除 vs 不完全、CT 所見)を検討し、Cox-hazard モデルを用いて単変量、多変量解析を行った。また Kaplan-Meier 法および Log-rank テストによって生存曲線の有意差検定を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、調査研究であり、東京大学医学部研究倫理審査委員会による審査にて包括的婦人科腫瘍の調査研究として承認されている。

## C. 研究結果

### 1) 洗浄細胞診と擦過細胞診の比較

50 例のうち、腹腔内細胞診陽性は 22 例に認めた。22 例全例において、洗浄細胞診が陽性であった。部位別の擦過細胞診では 22 例中で陰性となった部位も散見された。擦過細胞診だけが陽性で、洗浄細胞診が陰性であった症例はなかった。以上のことから、洗浄細胞診を採取、検査することによって、腹腔内進展をモニターすることができると考えられた。

### 2) 手術完遂度と腹腔内細胞診の比較

IS において手術完遂度は最も重要な予後規定因子であることは多く報告されている。本研究では IS 時の肉眼的完全切除が 32 例 (64%) であったが、そのうち 9 例は腹腔内細胞診が陽性 (9/32) であった。肉眼的に残存腫瘍がなくても細胞レベルでは癌細胞が検出された。一方、不完全切除例でも腹腔内細胞診が陽性とならなかった症例が 18 例中 5 例に認めた。これは細胞診が偽陰性であった可能性が考えられた。

### 3) 無増悪生存期間における予後規定因子の検討

IS 時の各因子について、無増悪生存期間(PFS)について予後因子を検討するために cox-hazard モデルを用いて解析を行った。PFS, OS とともに腹腔内細胞診 ( $p=0.0015$ ) と手術完遂度 ( $p=0.0171$ ) が単変量解析で有意な予後規定因子として抽出された。有意差はないが傾向があった因子として、IS 時 CA125 値 ( $p=0.0539$ )、IS 時残存腫瘍個数 ( $p=0.0554$ ) が挙げられた。

独立予後因子を検討するために、腹腔内細胞診、手術完遂度、CA125 値、残存腫瘍個数を用いて多変量解析を行った。腹腔内細胞診だけが有意差をもった独立予後因子として抽出された ( $p=0.0303$ )。

### 4) カプランマイヤー曲線による生存期間と予後因子の検討

上記で抽出された腹腔内細胞診、手術完遂度について、 Kaplan-Meier 曲線を作成したところ、3 年の PFS, OS とともにいずれも有意差を認めた。3 年 OS は、腹腔内細胞診陽性例で 40%、陰性例で 78% であった ( $p<0.0001$ )。

## D. 考察

腹腔内進展を評価する場合、部位別、特に上腹部の細胞レベルの癌進展が危惧されるが、本研究では横隔膜下や左右傍結腸溝の擦過細胞診だけが陽性の例はな

かった。いずれも骨盤内細胞診、とくに洗淨細胞診で癌細胞が検出されたことから、細胞診による評価として、骨盤内洗淨細胞診で十分であると考えられた。

上皮性卵巣癌の妊孕性温存治療のための腹腔内進展の評価としても骨盤内洗淨細胞診が必要十分であることが示唆された。

また妊孕性温存治療においては、しばしば初回手術は診断確定のための付属器切除のみにとどまり、stagingが不十分な場合がある。特にがん専門病院以外で実施された場合や緊急手術で実施された場合は、術中細胞診をそのため再手術を実施することがある。本研究と類似の状況であるが、肉眼的に播種病変がなくても腹腔内細胞診を採取し検討することは正確な診断を行うために必須であると考えられた。

#### E. 結論

腹腔内細胞診による腹腔内進展の評価は上皮性卵巣癌の治療において有用である。肉眼的所見だけに頼るのではなく、骨盤内の洗淨細胞診を採取、検査する必要が示された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nagasaka K, Kawana K, et al. Positive peritoneal cytology at interval surgery is independent poor prognostic factor in patients with stage T3c advanced ovarian carcinoma: A retrospective study, J Obstet Gynecol Res, in press
2. Oda K, Kawana K, et al. Huge pyogenic cervical cyst with endometriosis, developing 13 years after myomectomy at the lower uterine segment: a case report, BMC Womens Health., 2014, 14:104.
3. Inoue T, Kawana K, et al. Xanthogranulomatous inflammation of the perimetrium with

infiltration into the uterine myometrium in a postmenopausal woman: a case report. BMC Womens Health. 2014, 14:82.

4. Kashiya T, Kawana K, et al. Antitumor activity and induction of TP53-dependent apoptosis toward ovarian clear cell adenocarcinoma by the dual PI3K/mTOR Inhibitor DS-7423, PLOSone, 2014, 9(2): e87220.
5. Taguchi A, Kawana K, et al. Resveratrol suppresses inflammatory responses in endometrial stromal cells derived from endometriosis: a possible role of the sirtuin 1 pathway. J Obstet and Gynecol Res, 2014, 40(3):770-778.
6. Asada K, Kawana K, et al. Poor prognosis of ovarian cancer with large cell neuroendocrine carcinoma: case report and review of published works. J Obstet Gynaecol Res, 2014, 40(3):869-872.

##### 2. 学会発表

1. 長阪一憲、川名 敬、他:「卵巣癌 T3c 期に対する Interval Debulking Surgery (IDS) の臨床的意義に関する研究」第 66 回日本産科婦人科学会学術講演会 4 月 18 日-20 日. 2014 年. 東京

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（業務項目）

近年の進行卵巣癌における予後改善の有無に関する検討

担当責任者 齋藤俊章 九州がんセンター 婦人科 部長

#### 研究要旨

卵巣癌の術後補助化学療法は、1999年以降、白金製剤とタキサン製剤を中心とした治療へ変化してきた。また、2010年頃から Pegylated liposomal doxorubicin hydrochloride（以下 PLD）や Gemcitabine hydrochloride（以下 GEM）が再発卵巣癌の化学療法に使われるようになってきた。これらの 1st line, 2nd line 化学療法の変遷に伴い、卵巣癌の予後は改善してきていると推測されているがその実態は明らかではない。本研究は 1999 年以降の卵巣癌治療後の予後について期間別の検討を行ない、卵巣癌の予後改善の有無と、それに寄与する因子について検討した。1999 年～2010 年に当院で上皮性卵巣癌と診断された患者 266 例を対象とし、初回治療時期を 1999 年～2005 年（前期）と 2006 年～2010 年（後期）に分類し、III/IV 期の卵巣癌患者における臨床背景、治療内容、生存期間などを検討した。前期と後期の比較では、後期において統計学的に有意に生存期間の延長が認められた。予後解析により予後に影響を与える因子は診断時期、PLD and/or GEM の使用歴であった。卵巣癌治療においては 1999 年以降、TC 療法が第 1 選択治療として広まり予後の改善がなされているが、2010 年以降再発癌に対して新たに有効な薬剤が使用できるようになりその予後はさらに改善していることが示唆された。

#### A. 研究目的

1999 年以降の卵巣癌患者における長期予後について、期間別の検討を行ない、卵巣癌の予後改善の有無と、それに寄与する因子について検討する。

#### B. 研究方法

対象：1999 年～2010 年に当院で上皮性卵巣癌Ⅲ・Ⅳと診断された患者 134 例（Ⅲ期 98 例、Ⅳ期 36 例）

方法：期間を 1999 年～2005 年（Group A）と 2006 年～2010 年（Group B）に分類し、III/IV 期の卵巣癌患者における臨床背景、治療内容、生存期間などを検討した。生存率は Kaplan-Meier 法で算出し、統計学

的検定には Log rank test を用いた。多変量解析には Cox hazard model を使用した。

（倫理面への配慮）

診療録からのデータを抽出して行う観察研究である。全ての患者に対しては、診療としての卵巣癌治療を行う前に十分な説明を行い、自主的な同意を得た上で署名して頂き、治療を行った。

#### C. 研究結果

1999 年から 2010 年までの 11 年間に於いて、当院で卵巣癌と診断されて治療を受けた患者は 271 例で、そのうちⅢ・Ⅳ期は 134 例であった。Group A 81 例、Group

B 53 例であった。二群において、臨床背景として、残存病変の有無、残存病変のサイズ、4 レジメ以上の化学療法、Pegylated liposomal doxorubicin hydrochloride (PLD) や Gemcitabine hydrochloride (GEM)PLD または Gemcitabine 使用の有無において頻度の差を認めた。Group A と Group B の全生存期間の比較を行ったところハザード比 0.556 (0.324-0.957)  $p < 0.0316$  と統計学的に有意に Group B の生存期間が延長していた。Ⅲ・Ⅳ期全体での予後関連因子を検討した。単変量解析では、各因子のハザード比は診断時期;前期 vs 後期, HR 0.556 (0.324-0.957),  $p < 0.034$ , 年齢;  $< 40$  vs  $> 40$ , HR 0.843 (0.365-1.944),  $p = 0.688$ , 組織型; Non Serous vs serous, HR 0.790 (0.498-1.253),  $p = 0.317$ , 残存病変; なし vs あり, HR 1.479 (0.880-2.486),  $p = 0.140$ , PLD/GEM; なし vs あり, HR 0.566 (0.325-0.984),  $p = 0.044$ , その他の抗癌剤; なし vs あり, HR 1.364 (0.860-2.164),  $p = 0.188$ , レジメン数;  $< 4$  vs  $> 4$ , HR 1.105 (0.702-1.741),  $p = 0.666$  であった。これらを多変量解析したところ、PLD/GEM の使用の有無のみが HR 0.466 (0.263-0.824),  $p = 0.026$  として抽出された。

Group B のみに限定して予後因子の多変量解析を行った結果では、残存病変の有無、PLD またはゲムシタビン使用の有無、レジメン数が独立して有意な因子として抽出された。

ちなみに同時期のⅠ・Ⅱ期の5年生存率は Group A 94.2%, Group B 98.2%といずれも極めて良好であった。

#### D. 考察

卵巣癌、特に進行卵巣癌の治療はここ30年間の間に劇的に変化した。化学療法の発達に伴い、手術を併用した集学的治療がその実を結んできた。特に化学療法は、白金製剤の登場から卵巣癌治療のあ

り方が変わってきたのであるが、さらに効果の増強、副作用の軽減という意味で、他の白金製剤(カルボプラチン)とタキサン製剤の登場が第二幕の始まりであった。TC療法が世界的標準治療になるに至り、初回治療における効果、コンプライアンスの向上は著しく改善したと言える。

第三幕は再発卵巣癌に有効な薬剤が増えたことであろう。しかも比較的長期に使用できることから薬剤感受性のある卵巣癌ではその生存期間は延長しているはずである。個々の薬剤や治療については検討がよく行われているが、総合的なⅢ・Ⅳ期卵巣癌の予後改善に関する検討は未だ充分には行われていない。

本研究はその端緒として行ったものであるが、第二幕と第三幕に相当する時期に治療を開始したものを比較すると明らかに近年治療を開始したものが予後が良好であった。過去のデータとの比較になるため、種々のバイアスや交絡因子が存在することは否めない。ただ、少なくとも多変量解析で近年のみ使用されるLPDやGEMの使用が独立して有意な予後良好因子であったことは、現在の治療の妥当性を裏付けるものと考えられる。

#### E. 結論

タキサン製剤導入後もさらに最近の5年間で進行卵巣癌患者における予後は改善している。卵巣癌治療においては1999年以降、TC療法が第1選択薬として使用されるようになってきたが、2010年以降再発癌に対して新たに有効な薬剤としてPLD, GEMが使用できるようになってきたことが予後改善に関与していることが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tokunaga H, Aoki D, Saito T, et al. Effects of chemotherapy on patients with recurrent cervical

- cancer previously treated with concurrent chemoradiotherapy: a retrospective multicenter survey in Japan. Int J Clin Oncol, in press
2. Shimamoto K, Saito T, et al. Prognostic significance of the treatment-free interval in patients with recurrent endometrial cancer. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2014, 175:92-96.
  3. Okadome M, Saito T, et al. Prediction of histological types of endometrial cancer by endometrial cytology. J Obstet Gynaecol Res, 2014, 40(7): 1931-1939.
  4. Tomita Y, Saito T, et al. The safety and efficacy of cisplatin plus gemcitabine in recurrent ovarian cancer. Int J Clin Oncol, 2014, 19(4):662-666.
  5. 辻田英司、齋藤俊章、他:「子宮癌からの転移性腓腫瘍の1切除例」日本外科系連合学会誌 39(6):1187-1191, 2014
  6. 衛藤貴子、齋藤俊章. :「子宮体がんIV期の治療個別化を模索する」臨床婦人科産科 2015, 69(1):88-94.
- 「同時化学放射線治療後再発頸癌に対する化学療法の有効性規定因子に関する多施設共同後方視的検討」第56回公益社団法人日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7月17日-19日, 2014. 栃木
4. 島本久美、齋藤俊章、他:「婦人科悪性腫瘍における周術期以外の時期を含めた深部静脈血栓症 (DVT), 肺塞栓症 (PE) の検討」第56回公益社団法人日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7月17日-19日, 2014. 栃木
  5. 島本久美、齋藤俊章、他:「4cm以上の子宮頸癌 I b2-II b における手術療法の予後への影響」第37回日本産婦人科手術学会 10月11日-12日, 2014. 札幌
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

#### 学会発表

1. 嶋田貴子、齋藤俊章、他:「近年における卵巣癌の予後は改善しているか?」第66回日本産科婦人科学会学術講演会、2014年4月18日-20日. 東京
2. 嶋田貴子、齋藤俊章、他:「進行卵巣癌の長期予後改善に寄与する因子についての検討」第71回九州連合産科婦人科学会・第65回九州ブロック産婦人科医会. 2014年5月25日.
3. 櫻田尚子、青木大輔、齋藤俊章、他:



厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（業務項目）

卵巣明細胞腺がんの低酸素培養によるグリコーゲンの蓄積とその機序の解明

担当責任者 岡本愛光 東京慈恵会医科大学 産婦人科学講座 教授

#### 研究要旨

卵巣明細胞腺癌がんは化学療法の奏効率が低く、進行例の予後は極めて不良である。今回われわれは卵巣明細胞腺がんの特徴的「細胞内グリコーゲン貯蔵」に着目し、そのメカニズムの解明により抗がん剤耐性克服および新規治療法開発の可能性を検討した。

卵巣明細胞腺がん細胞株 HAC2 細胞を低酸素培養することで常酸素培養に比較し細胞内のグリコーゲン濃度が上昇し、その機序として GYS1 (glycogen synthase 1) の HIF1 (hypoxia inducible factor 1) による活性化と、PI3K/AKT 経路による活性化を示した。また HAC2 細胞は PI3K/AKT 経路を活性化させる PIK3CA 遺伝子変異を認め、これにより常酸素においても HIF1 を安定化し発現を増加させると考えられた。これらのことより PIK3CA 遺伝子変異は卵巣明細胞腺がんにおける細胞内グリコーゲン貯蔵メカニズムの 1 つと考えられた。

近年、抗がん剤に耐性を示すがん幹細胞と HIF1 およびグルコース濃度との関連が報告されている。卵巣明細胞腺がんは PIK3CA 遺伝子の変異による HIF1 増加と、貯蔵されたグリコーゲン分解により得られたグルコースの利用によりがん幹細胞の割合が増加し、抗がん剤耐性となっている可能性がある。他のがんにおいて HIF1 の活性を抑制する mTOR 阻害剤とグルコースの代謝を阻害する解糖阻害剤の併用による相乗効果が示されている。卵巣明細胞腺がんにおいても両者の併用による効果を検証する必要がある

#### A. 研究目的

近年、腫瘍の組織型や生物学的特性に基づいた治療の個別化の必要性が指摘されている。本邦において卵巣がんの約 25% を占める卵巣明細胞腺癌がんは化学療法の奏効率が低く、進行例の予後は極めて不良である。今回われわれは卵巣明細胞腺がんの特徴的な病理学的所見である「細胞内グリコーゲン貯蔵」に着目し、そのメカニズムの解明により抗がん剤耐性克服および新規治療法開発の可能性を検討した。

#### B. 研究方法

細胞は卵巣明細胞腺がん細胞株 HAC2 細

胞を用いた。低酸素培養は Chamber を用いて行い、Chamber 内を酸素 1%、二酸化炭素 5%、窒素 94% にし、酸素濃度計でモニターした。

1) Chamber を用いた低酸素培養による HAC2 細胞の HIF1 および HIF1 関連タンパクの発現変化を調べた。

2) ノードマウスの皮下に HAC2 細胞を移植し、摘出した腫瘍における HIF1 の発現を常酸素培養における発現と比較した。また腫瘍切片の PAS 染色を行った。3) HAC2 細胞を低酸素、常酸素でそれぞれ培養し、細胞内グリコーゲン量を分光光度計による測定および PAS 染色で比較した。

4) 低酸素、常酸素、それぞれの条件で培

養した HAC2 細胞のグリコーゲン合成に関連したタンパク質をウエスタンブロット法で比較した。

5) ダイレクトシーケンス法を用いて HAC2 細胞の *PIK3CA* 遺伝子解析を行った。

### C. 研究結果

1) Chamber を用いた低酸素培養により HIF1 の発現は増加し、それに伴い HIF1 関連タンパクの発現も増加した (図 1, 2)。

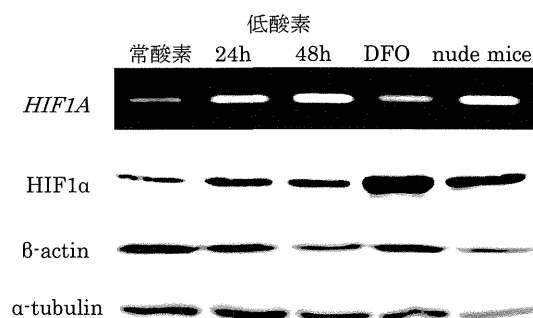


図 1. 低酸素により HIF1α は RNA およびタンパク質共に発現が増加した。ヌードマウスに移植した腫瘍細胞でも HIF1α の増加が認められた。

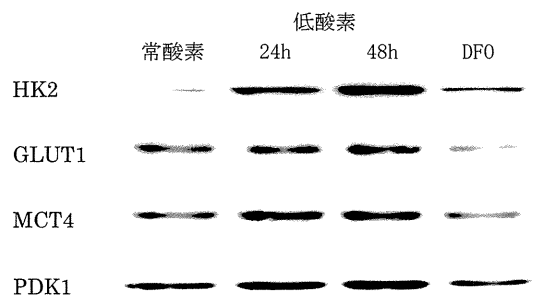
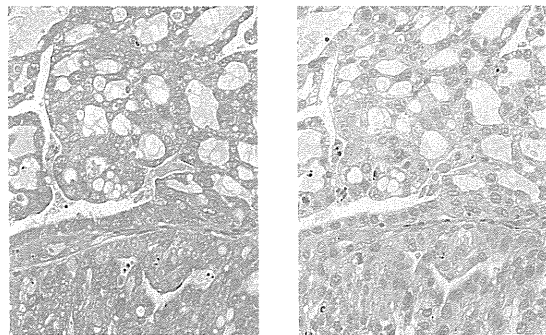


図 2. 低酸素により解糖に関連する HIF1 ターゲット遺伝子産物の発現が増加した。

2) ヌードマウスに移植した腫瘍細胞においても HIF1 の発現は増加していた。また腫瘍切片には PAS 陽性顆粒が著明に認められた (図 3)。



PAS 染色

Diastase PAS 染色

図 3. ヌードマウスに移植した腫瘍細胞内に PAS 陽性顆粒を著明に認めた。

3) HAC2 細胞内のグリコーゲン量は常酸素培養に比較し 24 時間低酸素培養によりわずかではあるが有意 ( $P < 0.05$ ) に増加し、48 時間低酸素培養では約 2 倍 ( $P < 0.01$ ) に増加した (図 4)。また PAS 染色でも低酸素培養により細胞内の PAS 陽性顆粒は増加した (図 5)。

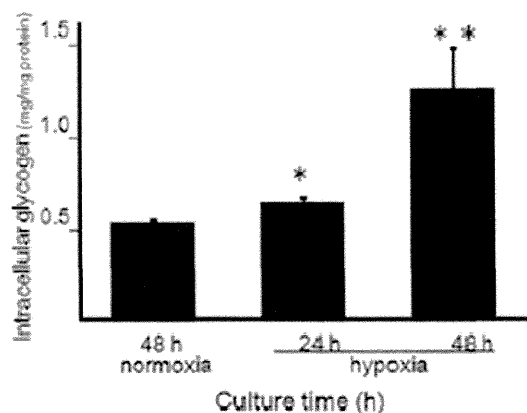
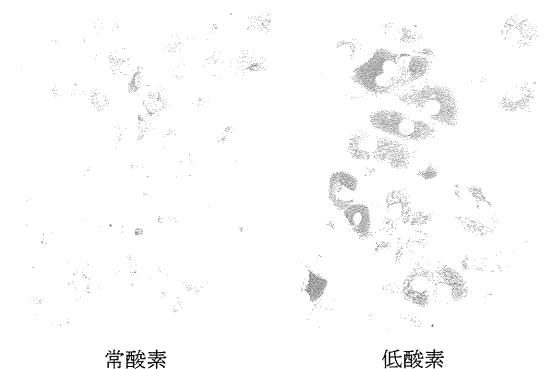


図 4. 細胞内グリコーゲンは常酸素に比較して低酸素培養 24 時間 (\*:  $P < 0.05$ ) で有意に増加し、48 時間で (\*\*:  $P < 0.01$ ) で約 2 倍になった



常酸素

低酸素

図 5. 常酸素培養に比較して低酸素培養では細胞内に PAS 染色陽性顆粒を多く認めた。

4) 低酸素培養により HIF1 の発現は増加し, glycogen synthase 1, muscle type (GYS1) の発現はわずかに増加した. また GYS1 を脱リン酸化し活性型にする protein phosphatase 1 およびその調節サブユニットである protein phosphatase 1, regulatory subunit 3C (PPP1R3C) が増加した(図 6). さらに低酸素培養により PI3K/AKT 経路が活性化され, GYS1 をリン酸化し不活性型にする glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 $\beta$ ) の活性低下が認められた(図 7). すなわち低酸素培養により GYS1 は発現が増加するとともに活性が上昇した.

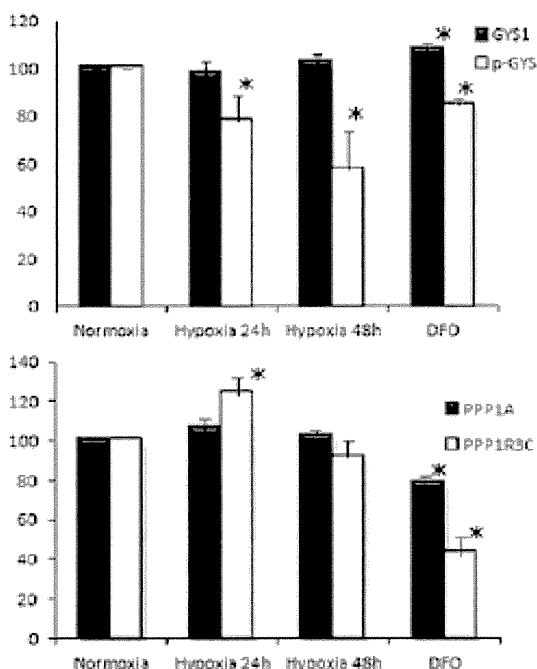


図 6. 低酸素培養により glycogen synthase (GYS) の不活性型である p-GYS が低下し, protein phosphatase regulatory subunit 3C (PPP1R3C) は増加した (\*: P < 0.05).

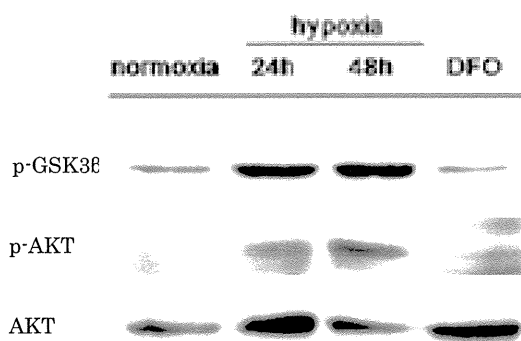


図 7. 低酸素培養により AKT の活性が高まり, これにより GSK3 $\beta$  の不活性型である p-GSK3 $\beta$  が増加した.

5) HAC2 細胞は *PIK3CA* 遺伝子の exon20 に H1047R (A3140G) 変異が認められた(図 8).

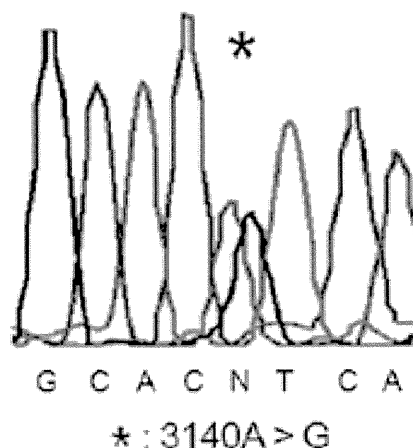


図 8. HAC2 細胞は *PIK3CA* exon20 に H1047R (A3140) 変異を認めた.

#### D. 考察

低酸素培養により卵巣明細胞腺がん細胞株 HAC2 細胞内グリコーゲン量が増加し, その機序として GYS1 の HIF1 による PPP1R3C を介した活性化と, PI3K/AKT 経路による GSK3 $\beta$  を介した活性化を示した. また HAC2 細胞は PI3K/AKT 経路を活性化させる *PIK3CA* 遺伝子変異を認めた. PI3K/AKT 経路の活性化は GSK3 $\beta$  の活性を低下させるだけでなく, 常酸素においても HIF1 を安定化し発現を増加させることが報告されている. これらのことより *PIK3CA* 遺伝子変異は卵巣明細胞腺がんにおける細胞内グリコーゲン貯蔵メカニズムの 1 つと考えられた.

近年, 低酸素培養によりがん幹細胞の割合が増加することが報告され HIF1 とがん幹細胞の関連が示唆されている. また培地のグルコース濃度上昇に伴いがん幹細胞の割合が増加することも報告されている. がん幹細胞は自己複製能と多分化能をもつ未分化な細胞で, 化学療法に耐性を示すことが報告されている. 卵巣明細胞腺がんは *PIK3CA* 遺伝子の変異による HIF1 増加と貯蔵されたグリコーゲン分解により得られたグルコースの利用によりがん幹細胞の割合が増加し, 抗がん剤耐

性となっている可能性がある。卵巣明細胞腺がんの治療としてHIF1の活性を抑制し効果が期待される薬剤がmTOR阻害剤である。またがん幹細胞に対する治療として、がん幹細胞が通常のがん細胞に比較して解糖への依存が強いことから、解糖阻害剤が使用され効果が示されている。

さらにmTOR阻害剤と解糖阻害剤の併用による相乗効果も報告されており、今後卵巣明細胞腺がんにおいても両者の併用による効果の検証を行う必要がある。

## E. 結論

卵巣明細胞腺がんのグリコーゲン貯蔵メカニズムとしてPIK3CA遺伝子の変異が関与していると考えられた。また卵巣明細胞腺がんの抗がん剤耐性にはがん幹細胞の関連が示唆されることから今後、明細胞腺がんの治療としてがん幹細胞をターゲットとした治療を検討すべきである。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Suzuki K, Okamoto A, et al. Impact of Surgical Staging in Stage I Clear Cell Adenocarcinoma of the Ovary. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24(7):1181-1189.
2. Seki T, Okamoto A, et al. Uterine endometrial carcinoma with trophoblastic differentiation: a case report with literature review. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2014, 35(4):461-464.
3. Saitou M, Okamoto A, et al. Success rate and safety of tumor debulking with diaphragmatic surgery for advanced epithelial ovarian cancer and peritoneal cancer. *Arch Gynecol Obstet*. 2015, 291(3):641-646.
4. Hirata Y, Okamoto A, et al. MicroRNA-21 is a candidate driver

gene for 17q23-25 amplification in ovarian clear cell carcinoma. *BMC Cancer*, 2014, 14(1):799.

5. Okamoto A, Takano M, Takano T, Aoki D, et al. Gynecologic Cancer InterGroup (GCIG) Consensus Review for Clear Cell Carcinoma of the Ovary. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, (9 Suppl 3):S20-25.

### 2. 学会発表

1. 山口乃里子、岡本愛光、他:「卵巣漿液性腺癌におけるDYRK2を介した転移・浸潤メカニズムの解明」第66回日本産科婦人科学会学術講演会 4月18日-20日、2014、東京
2. Okamoto A, Aoki D, Kato K, Yokota H, et al. Randomized phase III trial of paclitaxel/carboplatin (PC) versus cisplatin/irinotecan (CPT-P) as first-line chemotherapy in patients with clear cell carcinoma (CCC) of the ovary: A Japanese Gynecologic Oncology Group (JGOG)/GCIG study. 50th Annual Meeting of American Society of Clinical Oncology, May 30-June 3, 2014, Chicago, Illinois
3. 白石絵莉子、岡本愛光、他:「化学療法中に動脈血栓をきたした卵巣癌の1例」第127回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会、2014年6月21日-22日、東京
4. 笠井章代、岡本愛光、他:「卵巣原発腹膜偽粘液腫の2例」第127回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会、2014年6月21日-22日、東京
5. 井上桃子、岡本愛光、他:「化学療法奏効率に著明な差を認めた卵巣癌と境界悪性卵巣腫瘍の共存例」第56回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 7月17日-19日、2014、栃木
6. 飯田泰志、岡本愛光、他:「顆粒膜細