HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	化学療法耐性卵巣癌に対するEZH2阻害剤の相乗効果に関する検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	遠藤，大介
Description	配架番号：2282
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12541号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65999
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Daisuke_Endo_abstract.pdf，論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　　遠藤　大介

学 位 論 文 題 名

化学療法耐性卵巣癌に対する EZH2 阻害剤の相乗効果に関する検討

（Studies in the synergistic effect of EZH2 inhibitor on chemoresistant ovarian cancer）

【背景と目的】

卵巣癌は女性性器悪性腫瘍のなかで最も死亡数の多い疾患である。女性の癌関連死亡原因としては世界第 6 位、本邦第 9 位となっており、近年増加傾向となっている。標準治療は手術療法と化学療法を組み合わせた集学的治療であり、化学療法は、プラチナ製剤とタキサン製剤の併用療法が主に行われる。卵巣癌は自覚症状に乏しいことが多いため、約半数がⅢ期・Ⅳ期の進行癌症例であるが、初回化学療法の奏効率は比較的良好で、70～80%は抗癌剤感受性である。しかし一旦寛解に至っても、高率に転移・再発を来すため長期生存率は不良である。進行癌症例における初回治療終了後の無増悪生存期間と全生存期間は中央値でそれぞれ 12 か月、30 か月であり、再発症例の化学療法耐性獲得に対する新たな治療戦略が望まれている。最近分子標的薬 Bevacizumab の卵巣癌への適応拡大が承認されたため一定の予後改善が見込まれるが、分子標的薬の臨床応用は他癌腫に比べて少数に留まる。以上の理由から新規治療標的のさらなる探索は極めて重要な課題と考えられている。

主としてエピジェネティックな転写抑制に関与するポリコームタンパク質複合体(PRC2)の構成タンパクの一つであり、ヒストン H3K27 メチル化活性を有する Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2)は、卵巣癌を含む多くの癌で過剰発現が報告されており、細胞増殖や浸潤に関与しているとされる。EZH2 阻害剤は悪性リンパ腫をはじめ、いくつかの悪性腫瘍で効果が認められ一部で臨床試験が行われているが、卵巣癌での報告は少なくその有効性については不明な点が多い。クロマチンリモデリング複合体の構成分子である Brahma-related gene 1 (BRG1)、Integrase Interactor 1 (INI1)なども発現亢進あるいは欠損が大腸癌などで予後と関連しているという報告があるが、卵巣癌との関連にについての報告は少ない。本研究では卵巣癌において、エピジェネティックな転写調節因子である EZH2 の発現や BRG1、INI1 の欠損と予後との相関を臨床病理学的に検討し、なかでも選択的 EZH2 阻害剤の一つである GSK343 の卵巣癌に対する効果および作用機序の解明、GSK343 と Paclitaxel(PTX)の併用による相乗効果の有無を検討することを目的とした。

【対象と方法】

1997 年より 2015 年の間に北海道大学病院婦人科で治療を受け、インフォームドコンセントを得た卵巣癌患者 59 症例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いた。すべての標

本は初発時の摘出腫瘍 59 標本と標準化学療法後の摘出腫瘍 59 標本の組となるように選択した。ヘマトキシリン・エオジン染色で腫瘍の有無を確認し、抗 EZH2 抗体、抗 BRG1 抗体、抗 INI1 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。EZH2、BRG1、INI1 の発現と臨床予後との相関をカプラン・マイヤー法を用いて解析した。評価項目は全生存率とし、統計学的解析にはログランク検定を用いた。続いて卵巣癌細胞株とその PTX 耐性株における、GSK343 処理による H3K27 トリメチル化の抑制をウェスタンブロット法で確認した。また卵巣癌細胞株を GSK343 単剤、PTX 単剤、GSK343 + PTX 併用で処理し、細胞障害性アッセイを行った。卵巣癌異種移植片マウスモデルを用いて、GSK343 + PTX 併用による抗腫瘍効果を解析すると同時に、cDNA マイクロアレイにより遺伝子発現変動を GSK343 処理前後で比較解析し、抗腫瘍効果を担保するさらなる治療標的の探索を行った。

【結果】

化学療法後の検体において、EZH2 高発現群で有意に予後が不良であった。H3K27 トリメチル化は PTX 耐性株において亢進し、GSK343 処理後には高度に抑制された。卵巣癌細胞株を用いて行った細胞生存アッセイ、MTT アッセイの結果、GSK343 + PTX 併用で、単剤群と比較して有意に細胞増殖が抑制された。卵巣癌マウスモデルでの薬剤効果比較解析では、GSK343 と PTX 併用群で単剤投与群よりも統計学的に有意な腫瘍抑制効果を示した。

【考察】

EZH2 阻害剤は ARID1A 変異のある卵巣明細胞癌において、synthetic lethality により腫瘍増殖を抑えることが報告されている。今回は、組織型に依らず EZH2 阻害剤の用量依存的に H3K27me3 が阻害された。ただし、既報の通り ARID1A 野生型の RMG-1 では高用量でも H3K27me3 は抑制されなかった。また、漿液性癌、粘液性癌の一部の細胞株では PTX 耐性株において H3K27me3 はより強く抑制される傾向があったことから、明細胞癌のみならず、種々の組織型においても抗癌剤耐性株において GSK343 の抗腫瘍効果が強いことが予想された。これは EZH2 阻害剤によって卵巣癌が獲得した化学療法耐性を少なくとも部分的に解除することができる可能性を示唆する。*In vivo* では、GSK343 + PTX 併用群のみが統計学的に有意な腫瘍抑制効果を示し、治療終了後も効果が持続することが示唆された。また、明らかな体重減少や活動性の低下はみられず、併用における忍容性も確保されると考えられた。これらの結果から、EZH2 阻害剤は複数の組織型の卵巣癌に対して新たな治療薬として使用できる可能性を秘めており、化学療法耐性を獲得した薬剤と併用で用いることによりその耐性を解除するという観点から非常に重要であると考えられる。

【結論】

卵巣癌細胞株を用いた *in vitro* および *in vivo* の解析により、GSK343 と PTX 併用群で単剤投与群よりも統計学的に有意な腫瘍抑制効果を示し、治療終了後も効果が持続することが示唆された。すでに悪性リンパ腫などで臨床試験が進行している EZH2 阻害剤が、卵巣癌に対しても有効であることが本研究から示唆され、また、従来の化学療法との併用により更なる効果の増強あるいは化学療法耐性の解除ができる可能性も示されたことから、これまで治療困難とされてきた再発卵巣癌の治療成績改善が期待される。