

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 牧井 千波

本研究は、卵巣明細胞癌における分子標的薬の有効性を明らかにするため、MDM2 と PIK3CA の発現と予後との関連の検討と卵巣明細胞癌株に対して p53-MDM2 結合阻害剤である RG7112 単剤、および RG7112 と PI3K/mTOR 同時阻害剤である DS-7423 との併用における抗腫瘍効果を検証したものであり、下記の結果を得ている。

1. 臨床検体を用いた卵巣明細胞癌における MDM2 と PIK3CA の発現

91 例における卵巣がん組織（明細胞癌 75 例、漿液性癌 16 例）における MDM2 と PIK3CA の発現をマイクロアレイとリアルタイム PCR にて解析し、予後との関連につき Kaplan-Meier 法とログランクテストにより検討した。MDM2 発現は明細胞癌において漿液性癌や正常組織よりも有意に高かった。MDM2 高発現群は低発現群に比較し、無増悪生存期間（Progression free survival ; PFS）と全生存期間（Overall survival ; OS）ともに有意に予後が不良であった。PIK3CA 発現に関しては、高発現群が低発現群と比べて有意に予後が不良であった。また、MDM2 および PIK3CA がともに高発現だった 11 例においては MDM2 または PIK3CA 単独での解析と比し、より予後が不良であることが示された。

2. 卵巣明細胞癌細胞株における RG7112 の抗腫瘍効果

OCCC 細胞株 7 株における細胞増殖アッセイでは RG7112 は TP53 野生株においてのみ用量依存的に細胞増殖を抑制し、IC₅₀（50%増殖抑制濃度）は 1.0~2.2μM であった。ウエスタンブロッティングでは RG7112 添加は時間と濃度依存的に MDM2 と TP53、および TP21 の発現を上昇させ、TP53 依存性のアポトーシス因子が誘導された。細胞周期解析では、RG7112 の添加により濃度依存的に sub-G1 細胞の比率は上昇し、S 期の比率は低下した。Annexin V アッセイでもアポトーシス誘導が確認された。in vivo では RG7112 は皮下腫瘍の増大を有意に抑制し、in vitro の結果と同様に、RG7112 投与によってアポトーシス因子が誘導された。また、低酸素下（1% O₂）で上昇した HIF-1α の発現は、RG7112 を添加後に有意に抑制され、in vivo の腫瘍切片における CD31 の免疫染色では、有意に染色陽性細胞が減少し、血管密度の低下を示した。

3. 卵巣明細胞癌細胞株における RG7112 と DS-7423 の併用療法による抗腫瘍効果

卵巣粘液性腺癌細胞株 4 株において、RG7112 と DS-7423 の併用療法の CI はいずれも 1 以下であり、相乗効果があることが示された。ウエスタンブロッティングでは TP53 とアポトーシス

因子の発現は RG7112 単剤時に比べ併用時に有意に上昇した。細胞周期解析では、Sub-G1 期の比率が上昇し、Annexin V assay でもアポトーシス細胞の比率は併用で有意に高かった。in vivo では併用療法群はいずれの単剤群と比べても有意に腫瘍径を縮小させる効果を示した。腫瘍切片を用いた TUNEL 染色では染色陽性細胞は対照群と各単剤群に比べ、併用療法群で有意に増加しており、アポトーシス誘導が確認された。CD31 免疫染色においても有意に染色陽性細胞が減少し、血管密度の低下を示した。

以上、本論文は、TP53 野生型の卵巣明細胞癌において、MDM2 の発現亢進による p53 分解と PI3K-AKT 経路の活性化が重要な役割を果たしていることを明らかにし、これらの pathway が治療標的になることを明らかにした。本研究は、これまで卵巣明細胞癌においては未知であった MDM2 発現に注目し、より合理的な分子標的薬併用療法を構築していくことに重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。