

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 宮坂 亜希

本研究は子宮体癌における分子標的薬の有効性を明らかにするため ①PARP(poly ADP-ribose polymerase)阻害剤の効果と②放射線照射による抗腫瘍効果を増強する薬剤としての分子標的薬の効果を検証したものであり、下記の結果を得ている。

#### (1) 子宮体癌細胞株における PARP 阻害薬の抗腫瘍効果

PTEN は癌抑制遺伝子として、PI3K 経路の抑制の他に、核内で DNA 二本鎖修復にも関与するといわれる。すなわち PTEN の変異株は PARP 阻害剤の感受性が高いものと仮定された。PTEN の変異は 16 株中 12 株 (75%) と高頻度に認められた。この 12 株の PTEN 変異株のうち、4 株は PTEN が発現していたが 8 株に PTEN の発現消失を認めた。二本鎖修復因子、RAD51 は全ての株で発現が見られ、既報とは異なり、PTEN と RAD51 の発現の相関は見られなかった。またオラパリブ投与後の clonogenic assay では、PTEN 変異の有無及び PTEN 発現による SF50 値の違いは見られず、さらに HEC-6 と HEC-6-PTEN を用いた比較試験では、SF50 値はともに 1500nM であり、細胞周期にも明らかな差を認めなかった。細胞免疫染色による  $\gamma$ -H2AX と RAD51 の foci 数の評価では HEC-6 と HEC-6-PTEN は同様の数を示し、二本鎖 DNA 修復能に有意差を認めなかった。したがって、PARP 阻害薬の効果を予測するバイオマーカーとして、PTEN 変異は否定的であり、他の HR 関連因子が関与している可能性が考えられた。しかし全 16 株の clonogenic assay による SF50 は 8nM~2500nM であり、一部の子宮体癌株で高い抗腫瘍効果を示す症例が存在している可能性が示唆された。

#### (2) 子宮体癌細胞株における放射線照射の抗腫瘍効果

子宮体癌に対して術後補助療法として、症状緩和として、また局所再発に対する治療として放射線治療は長く行われてきた。しかし子宮体癌での放射線照射の効果を評価した基礎的データについて既報はほとんど存在しない。8 細胞株に X 線 2~6Gy を照射して clonogenic assay を行ったところ、D<sub>10</sub> 値 (90%の細胞増殖を抑制する線量) は 2~>6Gy であった。TP53 野生株 3 株の D<sub>10</sub> 値  $\leq 3.1$ Gy に比較し、TP53 変異株 5 株においては D<sub>10</sub> 値  $\geq 3.3$ Gy と感受性が低かった。放射線照射後に western blot にて MAPK と PI3K 経路が活性化し、また HIF-1 $\alpha$  も時間とともに発現が増加した。MEK 阻害剤 (UO126) または PI3K/mTOR 阻害剤 (BEZ235) と放射線を併用して clonogenic assay にて生存率が低下するかを確認した。全ての株で BEZ235 では明らかな SF50 値の低下 ( $\leq 2$ Gy) を示した。放射線照射後に HIF-1 $\alpha$

が増強していたことから、UO126・BEZ235によるMAPK経路またはPI3K経路の抑制とHIF-1 $\alpha$ の発現の相関についてwestern blot法で確認した。BEZ235によってHIF-1 $\alpha$ の発現は抑制された。続いてHIF-1 $\alpha$ のVEGF (Vasucular endometrial growth factor) の発現を検索したところ、BEZ235はVEGFを明らかに発現抑制した。

本研究ではPARP阻害薬に対する感受性の比較的高い子宮体癌細胞株が存在し、子宮体癌でのPARP阻害剤の可能性を示唆するものであった。また子宮体癌における放射線の感受性はTP53の変異の有無によって規定される可能性と、PI3K/mTOR阻害薬がHIF-1 $\alpha$ 、さらにはその下流のVEGFの発現を抑制することによって放射線の感受性が増強する可能性を明らかにした。子宮体癌における新たな分子標的治療薬の活用法として、PARP阻害薬と放射線照射の併用としてのPI3K/mTOR経路阻害薬の2面から解析した本研究結果が、今後の子宮体癌における分子標的薬の臨床応用に寄与するものと期待され、学位の授与に値するものと考えられる。