

## 論文内容の要旨

Inhibition of Aurora kinase A synergistically enhances cytotoxicity in ovarian clear cell carcinoma cell lines induced by cisplatin: A potential treatment strategy

(卵巣明細胞癌に対するオーロラキナーゼ A の阻害はシスプラチン誘導細胞死を増強する：新規治療戦略)

(千葉洋平, 佐藤誠也, 板持広明, 吉野直人, 深川大輔, 川村英生, 菅安寿子, 千葉淳美, 村木靖, 菅井有, 杉山徹)

(International Journal of Gynecologic Cancer 27 巻, 8 号, 平成 29 年 10 月掲載)

### I. 研究目的

本邦において、卵巣明細胞癌 (OCCC) は上皮性卵巣癌の 20%以上を占め、進行例の予後は極めて不良である。タキサン製剤と白金製剤による標準的化学療法に対して低感受性であることがその原因と考えられ、進行 OCCC に対する新たな治療戦略の開発が切望されている。

Aurora kinase A (Aurora-A) は分裂期特異的に作用するセリン/スレオニンキナーゼであり、有糸分裂において双極紡錘体形成や中心体分離、細胞質分裂に関与している。また、Aurora-A の異常により中心体数の増加と異数体形成が促されことから、その発がんへの関与が示唆されている。これまでに、上皮性卵巣癌を含む様々な悪性疾患で、Aurora-A の mRNA や蛋白の過剰発現が報告されている。しかしながら、OCCC における Aurora-A 発現の臨床的意義に関する検討はなされていない。

Aurora-A 阻害剤である ENMD-2076 は、様々な癌腫における基礎的検討でその効果が示されている。現在、OCCC 患者を対象として、ENMD-2076 を用いた第 II 相試験が進行中である。しかしながら、上皮性卵巣癌における Aurora-A 阻害剤と抗がん剤との併用効果についてはいまだ検討されていない。

本研究では、Aurora-A 蛋白発現が OCCC の予後に与える影響を明らかにするとともに、OCCC に対する ENMD-2076 と抗がん剤との併用効果について知ろうとした。

### II. 研究対象ならび方法

1. 2009 年から 2015 年に岩手医科大学附属病院で治療を行った OCCC 患者のうち、文書により同意の得られた 56 例を対象とした。初回手術時に得られた OCCC 組織検体を用いて、Aurora-A および Ki-67 の発現を免疫組織化学で検討し、臨床病理学的因子との関連を検索した。
2. 累積生存率は Kaplan-Meier 法で、有意差は log-rank 法を用いて検討するとともに、Cox の比例ハザードモデルを用いて予後因子解析を行った。
3. OCCC 由来細胞株 6 株 (KK, KOC-7C, OVAS, OVMANA, RMG-I, TU-OC-1) を用いて、Aurora-A

阻害剤である ENMD-2076 と、シスプラチン (CDDP), パクリタキセル (PTX), ドキソルビシン (DXR) およびイリノテカンの活性体である SN-38 の細胞増殖抑制効果を WST-8 assay により検討した. ENMD-2076 と抗がん剤との併用効果は, median effect 法を用いて検索した.

4. 薬剤添加後の細胞周期の変化およびアポトーシスを flow cytometry で解析した.

### III. 研究結果

1. OCCC 組織検体を用いた検討では, 96% (54/56) に Aurora-A 蛋白発現がみられ, 75% (42/56) では中等度以上の発現が観察された. 一方, Ki-67 陽性細胞率 (LI) の中央値は 12.5% (0.2-53.8%) であった. また, Aurora-A の染色強度と Ki-67 LI との間に関連はみられなかった.
2. 単変量解析では, 全生存期間は FIGO 進行期 IC3-IV 期と残存腫瘍径 >1 cm で有意に短かった. Aurora-A 蛋白の中および高発現群では, 陰性または弱発現群に比して予後不良の傾向がみられた. 特に, FIGO 進行期 IC3 期-IV 期例の累積 5 年生存率は, Aurora-A 蛋白の中および高発現群では 21% であり, 陰性または弱発現群の 77% に比して有意に低かった. 多変量解析の結果, Aurora-A 蛋白染色強度は残存腫瘍径とともに独立予後因子であった.
3. OCCC 6 株の各薬剤に対する 50% 阻害濃度 (IC50) は ENMD-2076 で 1.1-2.8  $\mu\text{mol/L}$ , CDDP で 3.6-8.9  $\text{nmol/L}$ , SN-38 で 9.5-42.2  $\text{nmol/L}$ , DXR で 77-380  $\text{ng/mL}$ , PTX で 29.9-3730  $\text{nmol/L}$  であった. ENMD-2076 と抗がん剤との併用効果の検討では, CDDP と SN-38 で 6 株中 4 株に, DXR で 3 株に相乗効果が得られたものの, PTX では 4 株で拮抗作用がみられた.
4. ENMD-2076 と CDDP との併用添加により, 単剤添加に比して G2/M 期細胞比率の増加が観察されるとともに, アポトーシスが有意に増加した.

### IV. 結 語

FIGO 進行期 IC3 期-IV 期例において, Aurora-A 蛋白の中および高発現群は有意に予後不良であった. また, OCCC 細胞株を用いた検討で, Aurora-A 阻害剤である ENMD-2076 は CDDP の細胞毒性を増強させた. したがって, FIGO 進行期 IC3 期-IV 期例において Aurora-A 蛋白発現は有望な予後予測マーカーとなり得ることが示唆されるとともに, Aurora-A 阻害剤は OCCC 患者の予後を改善する可能性が示された.

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査	教授	小原 航	(泌尿器科学講座)
副査	教授	伊藤 薫樹	(腫瘍内科学科)
副査	特任教授	熊谷 仁	(産婦人科学講座)

卵巣明細胞癌の進行例の予後は極めて不良であり，進行卵巣明細胞癌に対する新たな治療戦略の開発が切望されている。本論文は，分裂期特異的に作用するセリン/スレオニンキナーゼである Aurora kinase A (Aurora-A) に着目して，Aurora-A 阻害剤と CDDP 併用療法のメカニズムと臨床検体における Aurora-A 蛋白発現を検討した論文である。細胞株を用いた検討で，Aurora-A 阻害剤である ENMD-2076 は CDDP の細胞毒性を増強させた。また，FIGO 進行期 IC3 期-IV 期例において，Aurora-A 蛋白の中および高発現群は有意に予後不良であった。したがって，FIGO 進行期 IC3 期-IV 期例において Aurora-A 蛋白発現は有望な予後予測マーカーとなり得ることが示唆されるとともに，Aurora-A 阻害剤は卵巣明細胞癌患者の予後を改善する可能性が示された。本論文は，卵巣明細胞癌の新たな治療戦略の開発に役立つ有益な知見を示した研究といえる。学位に値する論文である。

## 試験・試問の結果の要旨

オーロラ A 阻害剤と CDDP の相乗効果の作用機序について，アポトーシスの作用機序について，コンパウンドのキナーゼ活性について，前癌病変となり得る子宮内膜症におけるオーロラ A の発現についての的確な返答を得た。また，学位論文の作成にあたって，剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

## 参考論文

- 1) Establishment and characterization of a novel uterine carcinosarcoma cell line, TU-ECS-1, with mutations of TP53 and KRAS (TP53 および KRAS 変異を有する新規子宮癌肉腫細胞株, TU-ECS-1 の樹立) (千葉洋平, 他 9 名と共著)  
Human Cell (2016)
- 2) Establishment and characterization of a novel ovarian clear cell carcinoma cell line, TU-OC-2, with loss of ARID1A expression (ARID1A の発現が消失した新規卵巣明細胞癌細胞株, TU-OC-2 の樹立) (佐藤誠也, 他 12 名と共著)  
Human Cell 29 巻, 4 号 (2016)