P1-163 免疫抑制性補助シグナル分子 PD-L1 発現は卵巣癌の予後と相関する

京都大

濱西潤三, 万代昌紀, 樋口壽宏, 山口 建, 高倉賢二, 藤井信吾

【目的】PD-1 (programmed cell death 1) は, T細胞上に発現しており, その刺激によりT細胞の細胞死を誘導する免疫抑制性受容体であり, 近年そのリガンドPD-L1, PD-L2を腫瘍が発現することにより宿主の抗腫瘍免疫反応から逃避する機序が報告されている. 我々は, ヒト卵巣癌におけるPD-L1, PD-L2の発現を免疫組織染色によって確認し, 予後との関係を明らかにするとともに, 腫瘍内CD8+T細胞数との相関を調べた. 【方法】当科にて1995—2001年に初回治療を行った卵巣癌患者のうち, 同意を得た70例のパラフィン切片を用いて免疫染色法によりPD-L1, PD-L2発現および腫瘍上皮内CD8+T細胞数を検出し, 予後との関係を解析した. 【成績】PD-L1強陽性であった48例(68.6%)は, 全生存率および無病生存率において有意に予後不良であり($p=0.016$, $p=0.038$), 多変量解析にて独立した予後因子であることがわかった. PD-L2強陽性26例(37.1%)は予後不良の傾向を認めたが有意ではなかった. 腫瘍上皮内CD8+T細胞数も全生存率および無病生存率に関して独立予後因子(両者とも $p<0.001$)であったが, PD-L1とは逆相関していた. 【結論】卵巣癌患者において, 免疫関連因子であるPD-L1の発現, 腫瘍内CD8+T細胞数はともに独立予後因子であり, 互いに相関することが示された. ヒト卵巣癌において免疫監視回避に関わるメカニズムは, 患者の予後を左右する重要な要素であり, これを解析することによって, 臨床における予後評価や治療選択に役立つ可能性が示唆された.

P1-164 卵巣癌細胞におけるhREV1発現抑制によるプラチナ耐性獲得の減少

昭和大

奥田 剛, 千葉 博, 満川香織, 長塚正晃, 岡井 崇

【目的】シスプラチン(DDP)耐性は, 既存の耐性変異株の生存と新たに変異によって発生した薬剤耐性クローン形成の両方に依存すると思われる. 一方, DNAバイパスポリメラーゼであるhREV1は真核生物の遺伝子変異発生に大きく関わっている. 本研究ではhREV1のDDP耐性獲得への関与を既存変異株の選択, 耐性獲得クローン発生, 両方について卵巣癌細胞を用いて検討した. 【方法】卵巣癌細胞である2008細胞にshRNAを導入し, hREV1発現抑制株を得る. 1) Colony Forming Assay(CFA)とEnrichment Assayで細胞の生存をコロニーレベルと細胞レベルで検討した. 2) 6-TG Assayにて変異細胞発生率を検討した. 3) 細胞をDDPに反復反応させ, DDPに耐性となる株をCFAにて確認した. 【成績】shRNAによりhREV1の発現は20%まで抑制された. 1) hREV1抑制細胞株は親細胞株と比較してDDP毒性への感受性が1.5倍増加した. 2) 一方, 遺伝子変異率はhREV1抑制細胞で2.6倍減少した. 3) 繰り返しDDP添加を行い, 抑制細胞株は親細胞株と比較してpopulationレベルで耐性株の発生が2.8倍遅延した. 【結論】以上よりhREV1はDDP耐性変異株の生存と新たな耐性株の形成, 両方に関与すると思われる. 重要なのは, hREV1はDDP耐性の発生率をpopulationレベルで制御することである. このように, hREV1はDDPによるゲノム不安定化とそれによる耐性形成の重要な要因のひとつである. 今後hREV1阻害剤によるプラチナ耐性獲得阻害の可能性が示唆された.

P1-165 卵巣癌におけるタキソール(TXL)耐性獲得に関与する分子生物学的機序の解明

防衛医大¹, 国立病院機構西埼玉中央病院², 湘南鎌倉病院³, 大木記念女性のための菊池がんクリニック⁴佐々木直樹¹, 工藤一弥¹, 吉川智之¹, 齋藤恵子², 山本謙三³, 高野政志¹, 平田純子¹, 喜多恒和¹, 古谷健一¹, 菊池義公⁴

【目的】卵巣癌におけるTXL耐性獲得に関与する分子生物学的機序を解明すること. 【方法】TXL耐性誘導卵巣癌細胞株であるKFr13Txは, その親株であるKFr13に比べ約50倍のTXL耐性を有する. 両細胞株のDNAコピー数の変化, mRNAの発現を網羅的に解析, 比較することでTXL耐性獲得への関与が疑われる遺伝子群を同定した. アレイCGHは約35kbの平均分解能を有するAgilent社のHuman Genome CGH Microarray kit 44Aを用いて行い, 遺伝子発現解析はAffymetrix社のGene Chip HG-U133 Plus2.0を用い, 約38500遺伝子を対象として行った. 【成績】アレイCGHの結果より, TXL耐性獲得への5q, 8p, 9pの欠失及び7q, 17pの増幅の関与が示唆された. これらのデータに遺伝子発現解析のデータを加え再解析することにより, TXL耐性獲得に関与している可能性の高い15遺伝子を抽出した. このうちのひとつであるABCB1は, KFr13Txにおいて極めて高い遺伝子発現を示し(log₂比でKFr13の7.8倍), その5'末端がホモ欠失していることよりfusion geneを形成していることが強く疑われた. このため5'-RACEを施行し, そのRACE産物をpCR2.1-TOPOベクターでクローニングした後, シークエンスを行い5'末端の塩基配列を決定した. その結果, KFr13TxにおいてABCB1は, その非翻訳領域であるエクソン1が完全に欠失しており, エクソン2の上流に65bpのイントロン1の塩基配列を認めることが確認された. 以上の結果よりaberrant splicingが存在することが明らかとなった. 【結論】TXL耐性獲得に関与する遺伝子群を同定した. 今回使用したTXL耐性卵巣癌細胞株におけるABCB1の発現増強に, そのaberrant splicingが関与していることが示唆された.