

P1-196 子宮体癌における mTOR 阻害剤 Everolimus (RAD001) の抗腫瘍効果の解析東京大¹, 北里大²庄司恵子¹, 織田克利¹, 中川俊介¹, 池田悠至¹, 宮本雄一郎¹, 平池春子¹, 谷川道洋¹, 蔵本博行², 平池 修¹, 川名 敬¹, 矢野 哲¹, 武谷雄二¹

【目的】子宮体癌では、*K-RAS*, *PTEN*, *PIK3CA* 等の AKT 上流遺伝子群の遺伝子変異等により、Ras-PI3K/AKT 経路が高頻度に活性化されており、AKT の下流の mTOR 経路を介して、細胞分化・増殖に重要な役割を果たしている。mTOR 阻害剤 Everolimus は、進行性腎癌の一部に対し欧州で承認済みであり、子宮体癌でも有効性が期待される。今回我々は、子宮体癌細胞株において Everolimus の抗腫瘍効果を検証した。【方法】子宮体癌 13 株に Everolimus を添加した。AKT 上流遺伝子群の変異の内訳は、変異陽性が 11 株 (*K-Ras/PTEN/PIK3CA* の 3 遺伝子変異が 1 株, *K-Ras/PIK3CA* の 2 遺伝子変異が 1 株, *PTEN/PIK3CA* の 2 遺伝子変異が 4 株, *PTEN* のみ変異 5 株), 変異陰性が 2 株であった。Everolimus による細胞増殖抑制能と mTOR 経路の抑制を、MTT assay, 及び、下流蛋白である 4E-BP1 (Thr37/46) と S6 (Ser235/236) のリン酸化 (Western blotting 法) で解析した。更に *K-Ras/PTEN/PIK3CA* 変異と Everolimus の感受性との相関を検討した。【成績】Everolimus (50nM) 投与により 13 株中 10 株において 30~60% の細胞増殖抑制が確認されたが (感受性群), 3 株での増殖抑制は 30% 以下であった (抵抗性群)。AKT 上流遺伝子変異陽性株は、11 株中 10 株で感受性群であった。変異陰性 2 株はいずれも抵抗性群であった。感受性株において、4E-BP1 と S6 のリン酸化は Everolimus 濃度依存性に抑制された。【結論】Everolimus は、Ras-PI3K/AKT 経路の遺伝子変異が陽性である子宮体癌において、AKT-mTOR 経路の阻害により抗腫瘍効果を示し、有望な分子標的治療薬であると考えられた。臨床応用に際して、AKT 上流遺伝子の変異の解析が Everolimus の有効性を判定する因子となる可能性が示された。

P1-197 子宮体癌における β -catenin, *CyclinD1* の遺伝子変異は Ras-PI3K 経路活性化に関わる遺伝子変異と高頻度に共存する

東京大

池田悠至, 織田克利, 中川俊介, 庄司恵子, 宮本雄一郎, 平池春子, 谷川道洋, 細川さつき, 平池 修, 川名 敬, 矢野 哲, 武谷雄二

【目的】*CyclinD1* は Wnt/ β -catenin 経路の標的遺伝子で細胞周期を G1→S 期へと促進する。また Ras-PI3K 経路も AKT の下流にある GSK3 β を介して β -catenin/*CyclinD1* 経路の活性化に関与する。子宮体癌における β -catenin/*CyclinD1* の遺伝子変異は個別に報告されているが、Ras-PI3K 経路との関連について知見は乏しい。今回我々は子宮体癌において、 β -catenin/*CyclinD1* 変異の頻度、臨床病理学的特徴と Ras-PI3K 経路活性化に関わる遺伝子 (*Ras*, *PTEN*, *PIK3CA*) の変異との共存について解析した。【方法】倫理委員会の承認のもと同意が得られた 52 例の子宮体癌組織から DNA を抽出し、 β -catenin (exon3), *CyclinD1* (exon3), *K-Ras* (exon1, 2), *PIK3CA* (exon9, 20), *PTEN* (exon1-8) の変異を PCR-Direct Sequence 法にて検索した。【成績】*CyclinD1* 変異 (T286I) は 2 例 (4%), β -catenin 変異 (T41A 他) は 3 例 (6%) であった。*K-Ras*, *PTEN*, *PIK3CA* の変異率はそれぞれ 20%, 52%, 35% であった。*CyclinD1* 変異 2 例は、類内膜腺癌 (G3) と混合性腺癌 (漿液性腺癌と明細胞腺癌) が各 1 例で、いずれも Stage III/IV 期で予後不良であった。 β -catenin 変異 3 例は、いずれも類内膜腺癌 (G1/G2), Stage I/II 期で予後良好であった。*CyclinD1* 変異 2 例では、*K-Ras*, *PTEN*, *PIK3CA* 変異がすべて陽性であった。 β -catenin 変異 3 例のうち、2 例は *PTEN* 変異陽性、1 例は *PIK3CA*, *K-Ras* 変異が陽性であった。【結論】 β -Catenin, *CyclinD1* に変異を有する子宮体癌では Ras-PI3K 経路の活性化因子を高率に共存しており、より効率的に細胞周期を G1→S 期へと促進していることが示唆された。また *CyclinD1* 変異は β -Catenin 変異と比べ、病理学的予後不良因子と関連している可能性がある。

P1-198 子宮体癌における染色体不安定性の分類に基づく Ras-PI3K (phosphatidylinositol 3'-kinase) 経路活性化機序の解明

東京大

織田克利, 細川さつき, 中川俊介, 庄司恵子, 池田悠至, 宮本雄一郎, 平池春子, 谷川道洋, 平池 修, 川名 敬, 矢野 哲, 武谷雄二

【目的】染色体不安定性 Chromosomal Instability (CI) は、染色体コピー数異常 (Copy Number Variation; CNV) 等を介して様々な癌関連遺伝子の発現異常をもたらすが、CNV の個数は個々の腫瘍により大きく異なる。子宮体癌では、癌抑制遺伝子 *PTEN* の欠失 (LOH 等) の他は、CNV による遺伝子発現異常の報告は乏しい。今回我々は、Ras-PI3K 経路関連遺伝子群 (*K-Ras*, *PTEN*, *PIK3CA*) の CNV と遺伝子変異を解析し、CI との相関を検討した。【方法】倫理委員会の承認のもと同意が得られた子宮体癌 (類内膜腺癌) 22 例の腫瘍から DNA を抽出し、SNP タイピングアレイ (50K) により、CNV の個数が 5ヶ所以上を CI-High (A 群), 0~4ヶ所を CI-Low (B 群) とした。腫瘍における *PTEN* (10q23), *PIK3CA* (3q26), *K-Ras* (12p12) 領域の CNV を調べ、Direct Sequence 法にてこれらの遺伝子変異を解析した。CI 分類と各因子との相関を Fisher's exact test で検定した。【成績】A 群は 6 例 (CNV 個数 5-9; 2 例, 10-; 4 例), B 群は 16 例 (CNV 個数 0: 4 例, 1; 10 例, 3-4; 2 例) であった。*PTEN* 遺伝子変異は、A 群 2 例 (33%), B 群 14 例 (88%) であった ($p=0.025$)。 *PIK3CA* 及び *K-Ras* 遺伝子変異は、A 群ではみられず、B 群の *PTEN* 変異 14 例のうち各々 6 例と 2 例に認められた。一方、CNV は、A 群では 6 例全例が陽性 (*PTEN* の欠失が 4 例, *PIK3CA*, *K-Ras* のコピー数増加は各 3 例, 2 例) であったが、B 群では 16 例中 3 例 (19%) のみ陽性 (*PTEN* の欠失 2 例, *K-Ras* のコピー数増加 1 例) であった ($p<0.01$)。変異・CNV とともに陰性は、B 群の 1 例 (6%) のみであった。【結論】Ras-PI3K 経路の遺伝子発現異常は子宮体癌で極めて高頻度であり、主として CI-High 群では CNV, CI-Low 群では遺伝子変異によって惹起されると考えられた。