

P3-48-7 子宮体癌に対するオーダーメイド分子標的治療のための CTOS (Cancer Tissue-Originated Spheroid) を用いた基礎的研究

大阪大

清原裕美子, 吉野 潔, 藤田征巳, 上田 豊, 木村敏啓, 松崎慎哉, 木村 正

【目的】子宮体癌において、分子標的阻害剤の増殖への影響を、癌細胞初代培養法を用いて検討した。【方法】子宮体癌の手術検体より CTOS 法を用いて初代培養細胞を調製した。長期培養可能であった1例の CTOS で、分子標的阻害剤(mTOR, IKK, Src, EGF, PI3K inhibitor)の効果を検討した。それぞれ0-30 μ Mの濃度で1週間暴露し、成長の阻害率を暴露前面積と暴露後 ATP 活性の比を用いて評価した。IKK inhibitor に関してはさらに8例の CTOS で評価した。手術検体は、患者の同意を得て採取した。【成績】低分化類内膜腺癌の1例に関して、mTOR inhibitor は、50% 成長阻害率が RAD001 で 0.48 μ M, OSI 027 で 3.4 μ M, また IKK inhibitor (BMS345541) では 50% 成長阻害率は 1.2 μ M と、細胞株を用いた従来の報告と同様の効果が得られた。Src inhibitor (dasatinib), EGF inhibitor (erlotinib) については、高濃度 (30 μ M) でのみ成長の阻害が観察されたが、PI3K (LY294002) に関しては、高濃度でも成長は阻害されなかった。成長阻害効果のあった IKK inhibitor に関して他の8例で検討を行ったところ、2例で成長の阻害を認め、3例では高濃度においてのみ成長の阻害が確認された。3例では、高濃度でも明らかな影響は認められなかった。【結論】子宮体癌において、分子標的阻害剤の効果を、初代培養による成長阻害試験で検討した。IKK inhibitor では効果に症例による差が観察され、有効な阻害剤の選択を症例ごとに行える可能性が示唆された。

P3-49-1 PI3K/mTOR 経路阻害剤 NVP-BE235 は p53 変異の有無によらず子宮体癌の放射線感受性を増強する

東京大

宮坂亜希, 織田克利, 池田悠至, 榎山智子, 神尊貴裕, 稲葉可奈子, 福田友彦, 牧井千波, 平池 修, 川名 敬, 大須賀穰, 藤井知行

【目的】子宮体癌において放射線治療は術後補助療法や局所再発の治療として用いられているが、子宮頸癌に比較して放射線感受性は乏しく、また感受性を増強する薬剤も確立されていない。子宮体癌細胞株における放射線の感受性を検討し、放射線照射 (IR) により活性化されるシグナル伝達経路をもとに Radiosensitizer となる分子標的薬の探索を行った。【方法】子宮体癌株8株において p53 の遺伝子変異を検索し、clonogenic assay にて放射線の抗腫瘍活性を検討した。IR による MAPK 経路と PI3K/mTOR 経路の活性化について Western blotting 法にて検証した。MAPK 経路阻害剤 UO126 または PI3K/mTOR 経路阻害剤 NVP-BE235 (BEZ235) を IR と併用し、IR の効果が増強されるかを検討した。【成績】4Gy の IR にて、Survival fraction (SF) が 0.05 以上の株 (抵抗性群) が 5 株 (62%) であり、0.01 未満の株 (感受性群) が 3 株 (38%) であった。抵抗性群5株はすべて p53 変異を有しており、感受性株3株はいずれも p53 変異陰性であった ($p < 0.01$ by Fisher's exact test)。IR (10Gy) により抵抗性株・感受性株共に、ERK のリン酸化上昇 (MAPK 経路の活性化)、AKT のリン酸化上昇 (PI3K 経路の活性化) が認められた。Clonogenic assay において、UO126 (10 μ M) は IR の感受性に影響を与えなかったが、BEZ235 の併用では濃度依存性に抗腫瘍効果が増強し、IR (4Gy) と BEZ235 (100nM) 併用時の SF は抵抗性株で 0.01 未満、感受性株で 0.001 未満を示した。【結論】子宮体癌において p53 の変異の有無が放射線感受性と相関することが示唆された。BEZ235 は IR の効果を増強する作用を有し、IR と PI3K/mTOR 経路阻害剤との併用が子宮体癌において新たな治療戦略となる可能性がある。

P3-49-2 子宮体癌において PI3K/mTOR 同時阻害剤と低用量の MEK 阻害剤との併用は新たな治療戦略となりうる東京大¹, 神奈川予防医学協会²稲葉可奈子¹, 織田克利¹, 宮坂亜希¹, 榎山智子¹, 福田友彦¹, 牧井千波¹, 池田悠至¹, 蔵本博行², 平池 修¹, 川名 敬¹, 大須賀穰¹, 藤井知行¹

【目的】子宮体癌では未だ実用化された分子標的薬がなく、要因の一つとして標的薬単剤での有効性の限界がある。子宮体癌で高頻度に活性化している PI3K/mTOR 経路と、その代償経路である MAPK 経路の双方を阻害する分子標的併用療法の有効性を検討した。【方法】子宮体癌細胞株8株に対して、PI3K/mTOR 同時阻害剤 XL765 と MEK (MAPK 経路) 阻害剤 pimasertib を各単剤または併用で添加した。MTT assay で 50% 増殖阻害濃度 (IC50) を算出した。併用においては10種類の濃度を設定し、Chou-Talalay 法で Combination Index (CI) を算出し、相乗効果 (CI < 1) を示す濃度を検索した。標的蛋白のリン酸化抑制を Immunoblotting 法で検証した。【成績】8株における各単剤に対する IC50 値は XL765: 0.5-6.0 μ M, pimasertib: 0.1-20 μ M であった。pimasertib 感受性4株 (IC50 $\leq$ 1 μ M) 全てで併用での相乗効果 (CI = 0.07-0.36) を認めた。同4株において pimasertib の必要最小量は 0.03 μ M であり、併用時の XL765 による IC50 値は 0.1-0.2 μ M まで低減し、濃度依存性に XL765 による細胞増殖が抑制された。pimasertib 抵抗性 (IC50 > 1 μ M) 4株では XL765 との併用効果 (CI = 1.0-4.0) は有意に低かった ($p = 0.01$, t 検定)。XL765, pimasertib の各標的蛋白 AKT, ERK のリン酸化は、各々 XL765 1 μ M, pimasertib 0.03 μ M 以上で抑制された。【結論】PI3K/mTOR 阻害剤と低用量の MEK 阻害剤の併用は相乗的な抗腫瘍作用を示し、相乗効果を予測するバイオマーカーとして MEK 阻害剤への感受性の関与が示唆された。主経路の阻害薬単独でなく、代償経路の阻害薬を低濃度で併用する方法は、副作用を軽減しつつ、より高い抗腫瘍効果を得る手段として臨床応用に繋がると期待される。