

主論文の要約

**KIF20A EXPRESSION AS A PROGNOSTIC
INDICATOR AND ITS POSSIBLE INVOLVEMENT
IN THE PROLIFERATION OF OVARIAN CLEAR-
CELL CARCINOMA**

〔 卵巣明細胞腺癌における予後予測因子としての
KIF20A の発現とその増殖への関与 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
発育・加齢医学講座 産婦人科学分野

(指導：吉川 史隆 教授)

河合 要介

【緒言】

上皮性卵巣癌は女性性器悪性腫瘍の中で最も死亡者数の多い疾患である。無症状で進行することが多いため、診断時には転移性の腹膜播種を有する場合が多い。卵巣癌には漿液性腺癌、明細胞腺癌、類内膜腺癌、粘液性腺癌などの組織型が存在し、それぞれ異なった性質を持っている。欧米において明細胞腺癌は卵巣癌全体の約 10%未満と稀だが、本邦では 24.8%を占め頻度が高い。明細胞腺癌は一般的に片側発生で早期診断されることが多い。さらに、化学療法抵抗性であるため、進行例において明細胞腺癌は予後不良である。よって卵巣癌の治療成績向上のために、明細胞腺癌において有用なバイオマーカーを検索することは重要であると考えられる。

Kinesin family member 20A(KIF20A)は細胞分裂に必要とされる微小管関連のモータータンパク質である。ゴルジ体に存在し、GTP 結合型 Rab6 と相互作用することで細胞小器官のダイナミクスを制御している。正常の胎生期肝臓、成人骨髄、胸腺において発現が確認されているが、肺癌、乳癌などの悪性腫瘍にて過剰に発現されることが報告されている。悪性細胞において、KIF20A は細胞増殖、遊走、浸潤、血管新生など悪性化への関与が報告されている。さらに乳癌の化学療法においてパクリタキセル抵抗性に関連している可能性も示唆されている。咽頭癌、子宮頸部扁平上皮癌、乳癌において KIF20A の過剰発現は予後不良と関連していた。

現在のところ検索し得る限り卵巣明細胞腺癌における KIF20A の発現についての報告は確認できない。KIF20A の発現が卵巣明細胞腺癌の予後を予測する因子となる可能性があり、KIF20A 発現と予後の関連を検討することで、その臨床的意義を検討した。また、卵巣癌細胞の増殖における KIF20A の役割を分析した。

【対象および方法】

1993 年～2006 年に名古屋大学医学部附属病院産婦人科で手術が施行され、予後が判明している卵巣明細胞腺癌のパラフィン包埋組織切片を用いて、抗 KIF20A 抗体による免疫染色を行った。KIF20A の発現分布と強度をスコア化し評価し、予後などの臨床データとの相関を解析した。

卵巣癌細胞株(ES-2、TOV-21G、RMG- I、RMG- II、SKOV3、OV-90、KOC-7C)で KIF20A の発現を Western Blotting にて確認した。高 KIF20A 発現株である ES-2、SKOV3 を使用し、siRNA を用いた KIF20A の発現抑制系で機能解析を行った。細胞周期とアポトーシスに与える影響を FACS 法および Annexin V 法にて評価した。また、KIF20A の阻害剤である Paprotrain が、卵巣癌細胞株に及ぼす効果について検討した。

【結果】

まず卵巣明細胞腺癌組織における KIF20A の発現の分布および強度と患者の予後との相関を検討した。患者背景を表 1 に示す。対象症例は 43 例であり、年齢の中央値(範囲)は 52(27-71)歳であった。FIGO 進行期分類は、Stage I が 58.1%(25/43)、Stage II が 18.6%(8/43)、Stage III が 18.6%(8/43)、Stage IV が 4.7%(2/43)であった。すべての患者

のうち 37 例(86.0%)は初回手術で残存腫瘍無く手術が施行できた。術後化学療法は 37 例(86.0%)で施行されていた。6 例は患者の意思または重篤な合併症のため術後化学療法を施行していなかった。

43 例の明細胞腺癌組織における KIF20A の発現の分布を 3 段階(0-2)、強度を 4 段階(0-3)で 2 名の婦人科腫瘍医によって評価し、スコア別に 6 段階(0-5)に分類した。これら KIF20A 発現状態を、スコア 0、1 の低発現群とスコア 2、3、4、5 の高発現群に分類した。年齢および術後化学療法施行の有無において、2 群間に有意差を認めた。

追跡期間の中央値(範囲)は 64.9(4.3-159.3)ヶ月であり、この期間に 18 例(41.9%)が再発した。再発までの期間の中央値は 11.5 ヶ月であった。すべての患者における 5 年無増悪生存期間と全生存期間は、それぞれ 60.0%および 63.5%であった。KIF20A の高発現群は低発現群と比較し、無増悪生存期間および全生存期間において有意差をもって悪い傾向であった(図 1)。Stage I の 25 例に限定した解析においても同様の傾向が確認された(図 2)。

年齢、FIGO 進行期分類、治療前の CA125 値、腹水量、手術内容、手術による残存腫瘍の有無、化学療法の内容、KIF20A の発現状態などの因子と予後との相関に関して単変量解析及び多変量解析で検討した(表 2)。単変量解析では CA125 値、腹水量、FIGO 進行期、残存腫瘍の有無、KIF20A の発現状態が有意に無増悪生存期間と関連していた。

表 3 に 17 例の死亡症例の詳細を記した。17 例中 13 例の 76.5%に KIF20A の高発現が確認できた。死亡例における再発部位は、腹腔内または遠隔臓器かその両方であった。

in vitro の実験系で卵巣明細胞腺癌の悪性化における KIF20A の役割を調査した(図 3)。様々な卵巣癌細胞株(ES-2、TOV-21G、RMG- I、RMG- II、SKOV3、OV-90、KOC-7C)で KIF20A の発現を Western Blotting にて確認したところ、すべての細胞で KIF20A の発現が確認できた。KIF20A の細胞増殖に関わる機能を調査するために、ES-2、SKOV3 の細胞株を使用し、siRNA を用いた KIF20A の発現抑制系で細胞増殖機能分析(CCK assay)を行ったところ、KIF20A をノックダウンすることで有意差をもって細胞増殖能は低下した。KIF20A が細胞増殖に関連していることをさらに検討するために、KIF20A の阻害剤である Paprotrain を用いて CCK assay を行った。結果は 100 μ M で細胞増殖能は約 50%減弱した。さらに阻害剤は濃度依存的に細胞増殖能を減弱することも確認された。KIF20A の細胞分裂に関わる機能を調査するために、FACS 法にて細胞周期分析を行った。KIF20A を抑制することで、G2/M 期の有意な増加と G1 期の減少が確認された。最後に Annexin V 法にてアポトーシス解析を行った。siKIF20A を導入した ES-2 細胞において、コントロールと比較しアポトーシス細胞は有意に増加していた。以上の結果より、KIF20A が卵巣明細胞腺癌細胞において細胞分裂に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

【考察】

我々は本研究において初めて卵巣明細胞腺癌における KIF20A の発現と予後の相関

を報告した。多変量解析においても KIF20A の高発現は無増悪生存期間において独立した予後不良因子となった。今までに子宮頸部扁平上皮癌や咽頭癌、神経膠腫などの悪性腫瘍において KIF20A の発現と予後の関連について報告されていた。我々の研究はこれらの結果と整合している。少数例での検討であるため、さらに多くの症例で検証されるべきだが、少なくとも KIF20A の発現が卵巣明細胞腺癌の予後を推測する指標となり、この発現を同定することがより良い治療戦略を選択することにつながるだろう。

in vitro の実験系より卵巣癌細胞の増殖に KIF20A の関与が示唆された。さらに細胞分裂を調節しており、KIF20A を抑制することでアポトーシスや細胞分裂停止を誘導することが判明した。癌細胞の遊走と浸潤は腹膜播種に関連する重要な現象である。膵臓癌において KIF20A を抑制することで膵癌細胞の増殖や浸潤が抑制された報告がある。卵巣明細胞腺癌の腹膜播種にも KIF20A が関与している可能性があり、今後の研究でこの機序が明らかになることを期待する。

卵巣明細胞腺癌はプラチナ系化学療法に抵抗性を占めず。本検討においては死亡症例 17 例中 13 例の 76.5%が KIF20A の高発現であった。化学療法抵抗性が高い再発率や癌関連死亡の原因と考えられ、KIF20A は細胞増殖を促進することと同様に化学療法抵抗性にも影響しているかもしれない。

KIF20A は膵臓癌において免疫ワクチン療法のターゲットとして有望とされており、膵臓癌におけるペプチドワクチン療法の臨床第 1/2 相試験が行われ、良い結果が示されている。卵巣明細胞腺癌においても KIF20A がペプチドワクチン療法の新規ターゲットの可能性もある。

【結語】

卵巣明細胞腺癌において KIF20A が高頻度で発現しており、悪性化に関与する可能性ある。KIF20A が卵巣明細胞腺癌において予後予測因子や治療標的と成り得る可能性が示唆された。KIF20A をターゲットとした治療により、卵巣明細胞腺癌患者の予後の改善が期待される。