

主論文の要旨

Expression of connective tissue growth factor as a prognostic indicator and its possible involvement in the aggressive properties of epithelial ovarian carcinoma

上皮性卵巣癌における予後予測因子としての
connective tissue growth factor (CTGF) 発現および
その悪性形質獲得に関連するメカニズムの解明

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)

新保 暁子

【緒言】

上皮性卵巣癌は、婦人科癌の中では最も死亡率が高い癌とされている。初診時にⅢ期以上の進行癌である頻度は約半数で、約7割は標準的な手術と化学療法後に再発する。一般的に卵巣癌は化学療法に感受性を示すことが多いが、卵巣癌細胞は治療に伴って薬剤耐性が高頻度で出現する。頻回な化学療法によって新たに獲得耐性が生まれ、耐性細胞が増殖して結果的に再発に至り、治療経過と共に徐々に奏効しにくくなる。CTGFは細胞外マトリックスタンパクのCCNファミリーの一つで、構造的に4つのドメインから形成されている。CTGFは細胞接着、遊走、増殖、血管新生、骨格発達、創傷治癒などの生物学的プロセスに重要な役割を果たし、線維化疾患や癌に関与していると考えられている。我々は、卵巣漿液性癌セルラインから獲得耐性細胞を樹立し、親株と比較によってそれらの根底に存在する重要な分子の一つとしてCTGFに着目した。

【目的】

CTGFは様々な悪性腫瘍において細胞増殖、運動、転移浸潤、および血管新生といった悪性形質の獲得と関連していることが報告されつつあるが、卵巣癌におけるCTGFの機能は未だ十分に理解されていない。我々は上皮性卵巣癌におけるCTGF発現が及ぼす分子メカニズムと臨床的意義を解析した。

【方法】

上皮性卵巣癌患者(n=104)から得られた臨床サンプルのパラフィンブロックを用いて、抗CTGF抗体による免疫染色を施行した。それによって発現レベルを半定量的に解析し予後との関連性を検討した。さらに薬剤耐性卵巣癌におけるCTGF発現の意義を調べるために運動能や薬剤耐性度に関連する機能解析を行った。

【結果】

104人の上皮性卵巣癌症例において、CTGF低発現群および高発現群はそれぞれ65症例(62.5%)、39症例(37.5%)であった。CTGF高発現群は低発現群と比較して、無増悪生存期間(PFS)と全生存期間(OS)の両者において予後不良の傾向を示した{ログランク検定: P=0.076(PFS)、P=0.078(OS)}。組織型によるサブグループ解析では、非明細胞癌症例ではCTGF高発現群で有意にOS、PFSが短縮していたが、明細胞癌症例ではそれらに有意差を認めなかった{ログランク検定: P=0.0036(PFS)、P=0.0070(OS)}。多変量解析では、CTGF発現がPFSおよびOSにおいて独立した予後不良因子であることが示された{PFS: HR(95%CI)=1.837(1.023-3.289), P=0.0418, OS: HR(95%CI)=2.141(1.077-4.296), P=0.0300}。

in vitroでは、パクリタキセル(PTX)耐性卵巣癌細胞を作成して、機能解析を行った。親株に比べ、耐性株では細胞に間葉系細胞様の形態変化を認めた。親株に比べ耐性株ではTGF- β 添加でカドヘリンは減弱し、フィブロネクチン、ビメンチンは増強

し、EMT (Epithelial-Mesenchymal Transition) が誘導されることが示唆された。免疫蛍光染色でも同様に E-カドヘリンの発現減弱が認められた。Migration assay では親株に対して、耐性株では細胞遊走能が促進され、さらに TGF- β 添加で増強することが示された。

また、この NOS2 (親株)、NOS2TR (耐性株) の高濃度 TGF- β 環境下における変化をマイクロアレイで解析し、関与する因子の同定を試み、既報などより候補を吟味して今回は CTGF に着目した。NOS2、NOS2TR における CTGF の発現は、TGF- β 添加によって増加するが、CTGF ノックダウンによって完全に抑制されることを確認した。リアルタイム PCR の結果もほぼ同様であった。Migration assay では、NOS2TR への TGF- β 添加によって増強した遊走能は、CTGF ノックダウンによって、完全に抑制された。また、別の漿液性癌セルラインである NOS3 (親株)、NOS3TR (耐性株) においても、TGF- β 添加での CTGF 発現が認められ、耐性株においては、CTGF ノックダウンで PTX 抵抗性が回復した。Migration assay においても、耐性株での遊走能が増強し、CTGF ノックダウンで完全に抑制された。

以上より上皮性卵巣癌における CTGF 発現は、PFS および OS を短縮させ、独立した予後不良因子である。In vitro においても、卵巣漿液性癌セルラインでの CTGF は、TGF- β 添加で増強した。耐性株では TGF- β 添加で細胞遊走能が増強するが、CTGF ノックダウンによって抑制された。また、耐性株では CTGF ノックダウンで薬剤感受性が回復することが示された。

【考察】

CTGF 高発現群は低発現群と比較して有意に PFS と OS が短縮し、多変量解析でも CTGF 発現が PFS および OS において独立した予後不良因子であることが示された。サブグループ解析では、明細胞癌に限ると予後に有意差を認めなかった。明細胞癌は、本邦での発生頻度が高く、漿液性癌に比べて化学療法抵抗性で予後不良の傾向を示す。非明細胞癌においては、CTGF 誘導性メカニズムに基づいた腫瘍の化学療法抵抗性獲得が示唆されたが、明細胞癌においては、異なったメカニズムが存在する可能性がある。以前の研究でも、CTGF は組織型別で発現が異なることが示されているが、どの組織型でも進行期においてより CTGF が蓄積されることが示唆されている。

CTGF は線維症、糖尿病性腎症、悪性疾患などにおける予後診断ツールとして今後臨床応用される可能性がある。また、特発性肺線維症や切除不能局所進行膵癌を対象として、CTGF を治療標的としたヒト化モノクローナル抗体薬 Pamrevlumab (FG-3019) を使用した臨床試験が行われ、有望な結果が示されつつある。しかしながら、CTGF の卵巣における機能は未だ十分には解明されておらず、今後も十分な検証が必要である。

【結語】

本研究において、CTGF 発現が薬剤耐性卵巣癌における潜在的な運動能促進効果と

化学療法抵抗性に関与している可能性が示唆された。また、上皮性卵巣癌患者において、CTGF 発現は予後不良因子であると共に次世代の治療標的となりうることが示された。