

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	竹内穂高
論文審査担当者	主査 清水公裕 副査 伊藤研一・菅野祐幸・吉田好雄
論文題目	PIM1 is a poor prognostic factor for and potential therapeutic target in serous carcinoma of the endometrium (PIM1 は子宮内膜漿液性癌の予後不良因子であり、治療標的となる可能性がある)
(論文の内容の要旨)	
【研究の背景と目的】 子宮内膜癌 (EMC : endometrial carcinoma) は増加傾向であり、組織型では類内膜癌 (EC : endometrioid carcinoma) の頻度が高く、漿液性癌 (SC : serous carcinoma) の占める頻度は低いが、SC は EC に比較し悪性度が高く予後不良であることが問題である。SC に対しては、近年、HER2 (human epidermal growth factor type 2) 阻害薬 Trastuzumab と抗がん剤の併用療法の有用性が報告されているが、治療効果は十分とは言えず、SC に対する新たな治療法の開発は依然として重要な課題である。 Pim-1 proto-oncogene (PIM1) は JAK/STAT 経路により調節されるセリン・スレオニンキナーゼであり、リン酸化を介して MYC などの標的タンパク質の機能を調節し、細胞周期の進行、アポトーシス、転写活性化など、様々な細胞機能に関与すると考えられている。PIM1 は白血病、悪性黒色腫、前立腺癌など、いくつかの癌で過剰発現し、進行や治療抵抗性への関与が報告されている。さらに The Cancer Genome Atlas (TCGA) の統合ゲノム解析により SC との類似性が見出されているトリプルネガティブ乳癌 (TNBC : triple negative breast cancer) においても、PIM1 の腫瘍増殖や抗がん剤抵抗性への関与が報告されている。一方、EMC における報告はない。そこで我々は EMC、特に SC における PIM1 の発現や機能、PIM1 阻害剤 (SGI-1776) の効果を検討した。	
【方法】 倫理委員会承認のもと、信州大学で子宮全摘術を施行された EMC133 例 (EC Grade1 : 62 例、Grade2 : 21 例、Grade3 : 20 例、SC : 30 例) のホルマリン固定パラフィン包埋切片に PIM1 免疫染色を施行し、核染色強度を H-Score (histo-score : 0-300) として定量化した後、無増悪生存期間 (PFS) および全生存期間 (OS) との関連を評価した。次に、SC 細胞株 ARK1 の PIM1 発現を siRNA で抑制し、増殖能 (生存能)、遊走能、浸潤能をそれぞれ WST-1 アッセイ、膜貫通アッセイ、マトリゲル浸潤アッセイで検討した。また、SC 細胞株 ARK1、ARK2、SPAC-1L および SPEC2 に PIM1 阻害剤 SGI-1776 を添加し、同様に増殖能 (生存能)、遊走能、浸潤能の検討を行った。さらに、BALB/c ノードマウスの ARK1 皮下異種移植腫瘍に対し、SGI-1776 経口投与の抗腫瘍効果を検討した。	

【結果および考察】

免疫染色による検討では、PIM1 H-score は EC (中央値 90.0) よりも SC (中央値 122.5) で有意に高値であった ($P < 0.0005$)。EMC 全体で H-score 140 (90 percentile 値) で高発現 (PIM1-high) と低発現 (PIM1-low) を分類すると、無増悪生存 (PFS : progression-free survival)、全生存 (OS : overall survival) とも PIM1-high で有意に不良であった (それぞれ $P = 0.016$ 、 $P = 0.001$)。SC のみにおいても、H-score 140 (75 percentile 値) で分類すると、やはり PFS、OS とも PIM1-high で有意に不良であった (それぞれ $P = 0.003$ 、 $P = 0.001$)。COX 回帰分析では PIM1-high は進行期 (III, IV 期) とともに独立した予後不良因子であった。これらのことから、PIM1 高発現は EMC、特に SC の悪性度上昇に関与することが考えられた。

そこで SC 細胞株を用いて PIM1 機能の検討を行った。まず、ARK1 細胞の PIM1 発現を siRNA でノックダウンさせたところ、細胞増殖能の低下 ($P < 0.001$)、遊走能 ($P < 0.001$) および浸潤能 ($P < 0.001$) の低下が観察された。次に PIM1 阻害薬 SGI-1776 添加を行ったところ、SC 細胞株 ARK1、ARK2、SPEC2 において IC50 が 1~5 μM で細胞生存率を低下させた。また、SGI-1776 投与は濃度依存的に ARK1 細胞の遊走および浸潤を減少させた。

さらにヌードマウスの ARK1 皮下異種移植腫瘍の増大は、SGI-1776 経口投与により著明に抑制された ($P < 0.0005$)。一方でマウスの体重増加は SGI-1776 投与の有無で差がなく、明らかな有害事象は観察されなかった。

【結論】

本研究により、PIM1 が EMC、特に SC の新規予後マーカーや治療標的となり得ることや、PIM1 阻害剤 SGI-1776 が SC に対する分子標的薬となる可能性が示された。

研究指導者 信州大学医学部教授 塩沢 丹里

研究場所 信州大学医学部 産科婦人科学 教室