

審査の結果の要旨

氏 名 庄司 恵子

本研究では子宮体癌の発生・進展過程における PI3K 経路の関与に着目し、子宮体癌における *AKT1* 遺伝子変異の検索と他の遺伝子変異との共存の有無、また PI3K および mTOR 経路を標的とした治療薬である RAD001 (mTOR 単独阻害剤)、NVP-BEZ235 (PI3K/mTOR 同時阻害剤) の抗腫瘍効果と、その有効性を予測するバイオマーカーについて検討したものであり、下記の結果を得ている。

1、*AKT1* の遺伝子変異の同定

東京大学医学部附属病院における子宮体癌の手術検体 89 症例を対象とし、腫瘍を採取し、ゲノム DNA を抽出し解析をしたところ、*AKT1* の E17K 遺伝子変異を 2.5%、85 例中 2 例に認めた。他の PI3K-AKT/mTOR 経路を活性化する遺伝子変異である、*PTEN*、*PIK3CA*、*K-RAS* 遺伝子変異は相互に重複例が多かったが、*AKT1* 変異の 2 症例においては、これら 3 遺伝子の変異や染色体コピー数異常は認められず、単独で PI3K 経路活性を有している可能性が示唆された。

2、子宮体癌における PI3K-AKT/mTOR 阻害剤の抗腫瘍効果の解析

- ① *PIK3CA*, *PTEN*, *K-RAS*, *AKT1* の遺伝子変異解析の結果、子宮体癌細胞株 13 株は以下の 4 群に分類された。A 群 (n=4) ; *PIK3CA*, *PTEN* 重複変異陽性、B 群 (n=5); *PTEN* のみ変異陽性、C 群 (n=2); *K-RAS*, *PIK3CA* 重複変異陽性、D 群 (n=2); *K-RAS* (12p12.1) の染色体増幅陽性。全 13 株が、*PIK3CA*, *PTEN*, *K-RAS* 遺伝子のいずれかの変異 (発現異常) を有していた。
- ② 子宮体癌細胞株 13 株に RAD001、NVP-BEZ235 の両薬剤を 0.626nM から 1000nM まで濃度を振って添加し、細胞増殖曲線を作成したところ、両薬剤とも子宮体癌細胞株に対して抗腫瘍効果を示した。PTEN 変異陽性 A 群 B 群でより強い増殖抑制効果が認められた。PTEN 遺伝子変異陽性、かつ K-Ras 遺伝子変異陰性は、PI3K/mTOR 阻害剤の効果予測するバイオマーカーとして有用であることが示唆された。
- ③ 標的蛋白のリン酸化抑制を調べたところ、両薬剤の mTOR 阻害作用は低濃度から認めるが、NVP-BEZ235 の PI3K 阻害作用は高濃度のみ認められることが示された。PI3K/mTOR 同時阻害剤の十分な抗腫瘍効果の発現には、薬物動態を考慮し、持続的に阻害効果を維持することが重要と考えられた。

- ④ さらに感受性株 {HEC-59 (A 群)、AN3CA (B 群)} において、薬剤添加後の細胞周期を調べたところ、Sub-G1 (細胞死) の比率は上昇していなかったが、両薬剤ともに G1 期の比率が上昇しており、特に NVP-BEZ235 100nM 添加時に、コントロールに比べ 24–31% 上昇していた。①の結果と合わせ、BEZ 235 におけるより強い抗腫瘍効果の結果からは、mTOR 阻害に加えて、PI3K/AKT 経路自体の抑制が十分な抗腫瘍効果を得るために重要であると考えられた。
- ⑤ *K-Ras* 変異陰性、*PTEN* 変異陽性の子宮体癌株 {HEC-59 (A 群)、AN3CA (B 群)} 担癌マウスを作成し、RAD001、NVP-BEZ235 の経口連日投与を行ったところ、両群において Control 群に比べ、有意な腫瘍増殖抑制効果が確認された。
in vivo においても子宮体癌における mTOR 単独阻害剤 RAD001 (everolimus)、PI3K/mTOR 同時阻害剤 NVP-BEZ235 の有効性が示された。
- ⑥ *K-RAS* 遺伝子発現異常陽性の 4 株では、いずれの阻害剤に対しても低感受性を示したが、MAPK 経路阻害剤(MEK 阻害剤)を併用することで、相加・相乗的に抗腫瘍効果が認められた。*K-Ras* 発現異常を有する子宮体癌においては、PI3K/mTOR 同時阻害剤と MAPK 経路阻害剤の併用療法が有効であると考えられた。

以上、本論文は子宮体癌において *AKT1* の E17LK 遺伝子変異を 2.5% に同定し、また子宮体癌における RAD001 (mTOR 単独阻害剤)、NVP-BEZ235 (PI3K/mTOR 同時阻害剤) の抗腫瘍効果を明らかにした。さらに、その有効性を予測するバイオマーカーとして、*PTEN* 遺伝子変異陽性かつ *K-Ras* 遺伝子変異陰性が有用であることを明らかにした。

本研究は、子宮体癌の発育において、PI3K/mTOR 経路が不可欠な役割を果たしており、PI3K/mTOR 経路を標的とした阻害剤は、子宮体癌において、有望な治療戦略であることを示し、臨床応用に際して重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。