

令和 6 年 5 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09673

研究課題名（和文）環境物質の経卵管的な卵巣暴露による発癌機構の解明から導かれる卵巣癌予防の外科戦略

研究課題名（英文）Strategies for ovarian cancer prevention: Evaluation of the impact of exposure of environmental carcinogenic substances to the ovary

研究代表者

片淵 秀隆（Katabuchi, Hidetaka）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・名誉教授

研究者番号：90224451

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、細胞実験、動物実験、そして臨床検体を用いた網羅的な解析を通して、アスベストやタルクに代表される環境物質がどのような機序で卵巣癌の発癌に関与しているかを明らかにすることを目的とした。

今回、われわれは、アスベストまたはタルクの曝露がヒト卵巣表層上皮細胞において活性酸素の産生を亢進させることを明らかにした。さらに、酸化ストレスによって生じるDNA障害の一つであり、特にde novo発癌との関連性が知られるDNAの二本鎖切断に関する解析を行った結果、アスベストならびにタルクの曝露は、ヒト卵巣表層上皮細胞におけるDNAの二本鎖切断を惹起すること証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の一連の研究結果から、卵巣癌の発症の予防という観点において、アスベストやタルクに代表される環境物質が卵巣癌の発症に密接に関与していることが明らかにされた。すなわち、環境物質が腹腔内に到達する経路を遮断するといった観点からも、卵管切除術が有意義である可能性があり、今後の検証をすすめていきたい。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to elucidate the mechanisms by which environmental substances, such as asbestos and talc, are involved in ovarian cancer carcinogenesis through comprehensive analysis of cellular, animal, and clinical specimens.

We found that exposure to asbestos or talc enhanced the production of reactive oxygen species (ROS) in human ovarian surface epithelial cells. Furthermore, we analyzed DNA double-strand breaks, which are known to be one of the DNA disorders induced by oxidative stress, especially related to de novo carcinogenesis, and demonstrated that asbestos and talc exposure induce DNA double-strand breaks in human ovarian surface epithelial cells.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：卵巣癌 環境物質 アスベスト タルク 発癌

## 1. 研究開始当初の背景

本邦において卵巣癌の罹患数は増加傾向にあり、毎年約1万人が罹患している。卵巣癌は初期の症状に乏しく、また効果的なスクリーニング法も確立されていないため、半分の症例が進行して診断される。そしてこれら進行卵巣癌の5年生存率は、過去40年において化学療法の進歩や新たな分子標的治療などの導入によって治療法の改善が進んだ現在においても、1期で44%、2期で28%と低い。卵巣癌全体の死亡数も罹患数の増加に伴い増加傾向にあり、毎年約5千人が死亡している。したがって、卵巣癌の今後の予後改善のためには、卵巣癌の発症を予防するといった観点から対策を講じる必要がある。

卵巣癌のリスク因子は、内的因子と外的因子に分類される。内的因子として、未産、排卵誘発剤の使用、ホルモン補充療法に加え、骨盤内炎症性疾患や多嚢胞性卵巣症候群、子宮内膜症は、卵巣癌の発症に密接に関与していることが知られている。その一方で、外的因子には特定の環境物質の曝露や欧米型の食生活などが挙げられる。特に、アスベストならびにタルクなどの環境物質と卵巣癌との関連性については、コスメティック商品中の環境物質が卵巣癌発症の原因になったとする係争が米国で近年起こった経緯から、社会的な注目を集めている(図1)。

アスベストおよびタルクは、いずれも珪酸塩鉱物の一種でそれぞれの鉱石を粉砕して利用されるが、鉱物学的に似た起源を持つため、タルクの生成時にアスベストが混入することがある。アスベストとタルクはともに安価で物理化学的に安定であるため汎く工業利用され、さらにタルクはその研磨性や凝固防止作用から様々なコスメティックの主成分として主に欧米人女性に利用されてきた。しかし、これらの環境物質のうち環境中に飛散したものや外陰部に触れたものは、主に経卵管的に卵巣に到達し、その局所で発癌を惹起する可能性が示されている。最新の国際がん研究機関(IARC)による発がん性リスクの分類によると、アスベストはグループ1(ヒトに対する発がん性が認められる)、タルクの外陰部への使用はグループ2B(ヒトに対する発がん性が疑われる)に分類され、それぞれが卵巣癌の発症に関連することがIARCによる各物質の発癌性についての総説に記されている。しかし、これらの発表は疫学的な調査結果を主な根拠としており、分子生物学的手法を用いた環境物質と卵巣癌の発症に関する検討は、これまでほとんどなされていない。

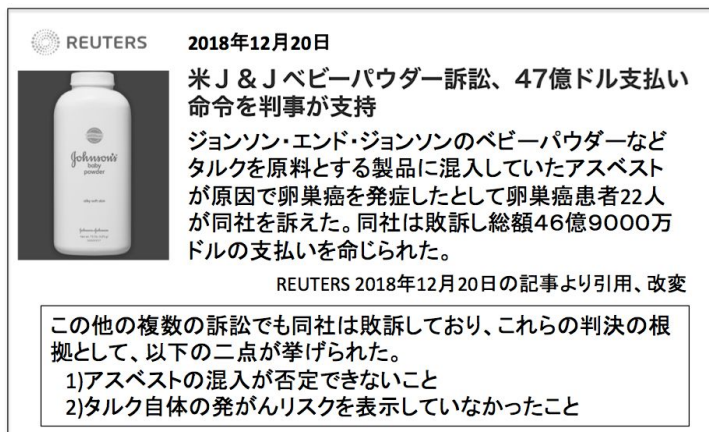


図1: 米国におけるアスベスト、タルクが原因で卵巣癌を発症したとする訴訟例

## 2. 研究の目的

以上に示した社会的ならびに学術的背景から、アスベストならびにタルクを代表とする環境物質が、どのような機序で卵巣癌の発症に関わっているのかを明らかにすることを目的とした。さらに、その発癌機序の一端が明らかになった際には、卵管を介した女性特有の外界との連絡がある腹腔内環境を閉鎖腔へ導くことによる外科的予防に関する検討も並行して行う予定である。これらの環境物質と卵巣癌の発症に関する既報は疫学調査が主であり、今回計画する培養細胞、実験動物、そして臨床検体を用いた網羅的な分子生物学的解析はこれまでに報告されていない。

## 3. 研究の方法

本研究では、培養細胞、実験動物、そして臨床検体を用いた系統的な分子生物学的根拠に基づく解析を通して、環境物質が卵巣癌の発症に関わる分子メカニズムについて解析し、さらに、環境物質の曝露による卵巣癌の発症予防に関する外科的戦略について検証する。

### (1) 培養細胞を用いた環境物質の曝露による発癌機序の検討

当施設で樹立した不死化したヒト卵巣表層上皮細胞を用いて、アスベストならびにタルクを曝露させた際の影響について解析する。さらに、活性酸素の産生を中心とした発癌機序に関する検討を行う(図2)。

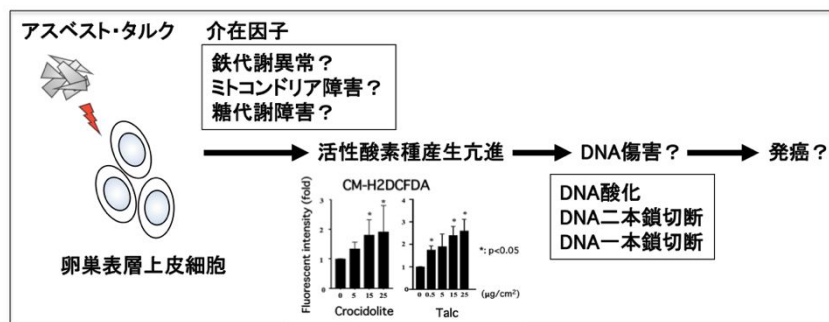


図2: 培養細胞を用いた発癌機序についての検討

## (2) 卵巣への曝露モデルラットを用いた発癌実験

動物モデルを作成して、生体内における環境物質曝露による発癌への影響を評価する。ラットを用いて、これらに特有の卵巣と卵管采を内包したこれら袋状構造物である卵巣嚢に標的物質を注入することで、環境物質曝露モデルを作成する。これによって他臓器への影響を最小限にしつつ卵巣への確実な曝露が可能となる。このモデルラットを用いて、特にアスベストならびにタルク曝露による長期間の観察による発癌実験を行う。本手法は当施設でこれまでに卵巣癌モデルマウスを作成する際に行ってきた手法と同様の手技であり、すでに確立されている。(図3)



図3: アスベスト、タルク曝露モデルラットによる発癌実験

## (3) 曝露後の発癌リスク低減因子の探索

上述した細胞実験ならびに動物実験により、環境物質による発癌機序が明らかとなった際には、曝露後の発癌予防に関する検証を行う。アスベストならびにタルク曝露によるヒト卵巣表層上皮細胞における活性酸素の産生亢進が確認された場合、抗酸化物質の使用による発癌抑制効果を細胞実験および動物実験にて予定する。

その一方で、環境物質の卵巣曝露に関して、臨床医のレベルで始められる対応策として、卵管を通じた外的因子の交通路を遮断することの有用性が示される可能性がある。すなわち、卵巣癌の発症の予防という観点において、環境因子が腹腔内に到達する経路を遮断するといった意味からも、卵管切除術が有意義である可能性がある。

## 4. 研究成果

上皮性卵巣癌(卵巣癌)は婦人科悪性腫瘍の中で最も死亡率の高い難治性の腫瘍である。卵巣癌に対する有効なスクリーニング法は現在まで確立されておらず、また発症初期の段階では特異的な症状に乏しいため、早期診断は困難であることが知られている。このため、卵巣癌に対する予防法の探索は極めて重要な側面を担っている。

本研究にて、われわれが行った実験において、アスベストまたはタルクの曝露がヒト卵巣表層上皮細胞において活性酸素の産生を亢進させることが示された。さらに、酸化ストレスによって生じるDNA障害の一つであり、特にde novo発癌との関連性が知られるDNAの二本鎖切断に関する解析を行った結果、アスベストならびにタルクの曝露は、ヒト卵巣表層上皮細胞におけるDNAの二本鎖切断を惹起すること明らかにされた。さらに、今回われわれが行った解析結果から、アスベストならびにタルク曝露によるヒト卵巣表層上皮細胞における活性酸素の産生亢進が確認された。

続いてわれわれは、ラットを用いたin vivoでの解析を行い、アスベストならびにタルクの曝露によるDNA障害に関して検討した。6週齢のWistarラットを用いて、卵巣へのアスベストおよびタルク曝露ラットモデルを作成した。ラットでは卵巣および卵管采を包む卵巣嚢が存在するため、この中にアスベストまたはタルクの懸濁液を注入することでモデルラットを作成した。その結果、曝露モデル作成後4週間の病理組織学的所見において、アスベスト、タルクを曝露した卵巣では立方や円柱上皮細胞への異型がみられ、細胞の偽重層も認められた。免疫組織学的組

織染色では H2AX 陽性細胞の増加が認められ、生体内においても卵巣表層上皮細胞における DNA の 2 本鎖切断を惹起していることが示された。

以上、今回われわれが行った一連の解析の結果、卵巣癌の発癌には女性の解剖学的構造から外的因子の経卵管性の関与が考えられた。われわれの解析結果から、アスベスト・タルクは、卵巣表層上皮の鉄代謝を変化させ活性酸素の産生を惹起することで卵巣癌を惹起することが明らかとなった。遺伝性乳癌卵巣癌における卵管切除の考えは、卵巣癌の STIC(漿液性卵管上皮内癌) 説によるところが大きい。その一方で、難治性の卵巣癌の予防という視点に立てば、外的環境因子が骨盤腔内に到達する経路を遮断するといった観点からも、卵管切除術が有意義である可能性があり、今後のさらなる臨床的検証が求められる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kobayashi Y, Masuda K, Hiraswa A, Takehara K, Tsuda H, Watanabe Y, Oda K, Nagase S, Mandai M, Okamoto A, Yaegashi N, Mikami M, Enomoto T, Aoki D, Katabuchi H; Working Group on Clinical Practice for Cancer Genomic Medicine and HBOC, Japan Society of Gynecologic Oncology.	4. 巻 33
2. 論文標題 Current status of hereditary breast and ovarian cancer practice among gynecologic oncologists in Japan: a nationwide survey by the Japan Society of Gynecologic Oncology (JSGO)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Gynecol Oncol.	6. 最初と最後の頁 e61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2022.33.e61.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamamoto M, Motohara T, Iwagoi Y, Tayama S, Tashiro H, Kondoh E, Katabuchi H.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Fertility-sparing surgery for early-stage cervical cancer: A case series study on the efficacy and feasibility of cervical conization followed by pelvic lymphadenectomy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Obstet Gynaecol Res	6. 最初と最後の頁 ahead of print.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.15215	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeshita Y, Motohara T, Kadomatsu T, Doi T, Obayashi K, Oike Y, Katabuchi H, Endo M.	4. 巻 561
2. 論文標題 Angiopoietin-like protein 2 decreases peritoneal metastasis of ovarian cancer cells by suppressing anoikis resistance.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 26-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.05.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Motohara T, Yoshida GJ, Katabuchi H.	4. 巻 77
2. 論文標題 The hallmarks of ovarian cancer stem cells and niches: Exploring their harmonious interplay in therapy resistance.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Semin Cancer Biol.	6. 最初と最後の頁 182-193.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.semcancer.2021.03.038.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwagoi Y, Motohara T, Hwang S, Fujimoto K, Ikeda T, Katabuchi H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Omental metastasis as a predictive risk factor for unfavorable prognosis in patients with stage III-IV epithelial ovarian cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 995-1004.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01866-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iwagoi Y, Motohara T, Hwang S, Fujimoto K, Ikeda T, Katabuchi H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Omental metastasis as a predictive risk factor for unfavorable prognosis in patients with stage III-IV epithelial ovarian cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 995-1004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01866-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	本原 剛志  (Motohara Takeshi)  (10457591)	熊本大学・病院・講師   (17401)	
研究分担者	田代 浩徳  (Tashiro Hironori)  (70304996)	熊本大学・大学院生命科学研究部(保)・教授   (17401)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------