

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462532

研究課題名(和文)新規卵巣癌動物モデルの確立と発癌メカニズムの解明

研究課題名(英文) A novel animal model of ovarian serous carcinogenesis from tubal secretory cells.

研究代表者

趙 娟 (Zhao, Juan)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：20381890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、卵巣漿液性腺がんの発生母地は卵管上皮細胞であるという新たな仮説が提唱されている状況のもと、卵管上皮細胞由来の卵巣がんを発症する動物モデルの確立は強く望まれている。本研究では、マウス卵管特異的糖タンパク質遺伝子(OGP)のプロモーター制御下でSV40ラージT抗原遺伝子を発現するトランスジェニック(OGPTag, Tg)雌マウスを、卵管上皮細胞由来卵巣がんを発症する動物モデルを確立した。それを用いた発がん及び腹膜転移メカニズムの解明が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Recent evidence suggests that ovarian serous cancers originate not in the ovaries, but rather from the secretory cells of the fallopian tube. Therefore, a new pre-clinical mice model that can replicate human ovarian serous cancers is strongly desired. Here we proved mogp-TAg transgenic mouse, which expresses the SV40 large T-antigen (TAg) under the control of the mouse mullerian-specific Ovgp-1 promoter, as a novel model of ovarian serous cancer by using ovary transplant. This mouse has the potential to be a very useful new model for elucidating the mechanisms of serous ovarian tumorigenesis, as well as for developing novel approaches for the prevention, diagnosis and therapy of this disease.

研究分野：実験動物モデル

キーワード：動物モデル 卵巣がん

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本における上皮性卵巣癌の罹患数は増加傾向にあり、現在、婦人科癌死亡の第1位である。その治療は手術療法を基本とし、化学療法を併用するものの、大半の症例で腹膜播種を起こすため長期予後は依然として不良である。上皮性卵巣癌の中 70%は漿液性腺癌で、その発生母地は、卵巣を被覆する一層の表層上皮であると長く信じられてきた。一方、近年欧米で家族性乳癌卵巣癌における BRCA1/2 のキャリアの症例に卵巣癌発症の予防目的で子宮付属器手摘出術が行われてきた。その摘出標本の病理組織的解析により、遺伝性卵巣癌の前癌病変が卵巣に近接する卵管采にみられることが報告された。家族性乳癌卵巣癌キャリアに限らず、卵巣漿液性腺癌の組織由来について、現在では卵巣の漿膜よりむしろ卵管の分泌上皮説が支持され始めている。しかし、その詳細な発症メカニズムは十分検証されていない。この機序を解明することは患者生存率を上昇させる上で必要であると考えられる。

(2) 悪性腫瘍に限らず各疾患の動物モデルは発症メカニズム解明のために非常に重要である。今まで、卵巣表層上皮細胞からの卵巣癌を発症するモデルマウスを中心に解析が行われたが、卵管上皮由来の卵巣癌を発症するモデル動物、または卵管上皮由来の腹膜転移モデルはまだほとんど確立されていない。卵巣癌の発生メカニズムと病態解明のために、その動物モデルの確立は強く望まれている。

2. 研究の目的

以前、我々はマウス卵管特異的糖タンパク質 (oviduct-specific glycoprotein; OGP) 遺伝子のプロモーター領域の下流に SV40 ラージ T 抗原 (TA_g) 遺伝子を配置した導入遺

伝子を持つトランスジェニックマウス (OGPTag Tg) を作製し、OGPTag Tg 雌マウスが 6 週までに雌性生殖器で腫瘍を形成することを報告した。今回は、OGPTag Tg マウスを卵管上皮由来卵巣癌を発症するモデル動物として妥当か否かを確認し、それを用いて卵巣癌の発生と転移メカニズムの解明を試す。

3. 研究の方法

本研究では、OGPTag Tg マウスにおける腫瘍の病理解析を確定するとともに、卵巣の摘出あるいは移植、卵管の摘出等により、OGPTag Tg マウスで卵巣癌の発生母地を確認した。または、OGPTag Tg マウスの腫瘍組織から新たな培養細胞株を樹立し、または腹腔内移植による自然卵巣癌腹膜転移モデルの作製を試みた。

(1) 各週齢マウスの腫瘍を中心に組織の凍結、及びホルマリンプロックを作成して形態学的に評価した。または、SV40 ラージ T 抗原 (TA_g)、増殖のマーカー-Ki67、p53 の発現を確認し、ミューラー管由来性(卵管上皮性)マーカー-PAX8 を用いて腫瘍の発生母地を確認した。

(2) 卵巣の摘出あるいは移植、卵管の摘出等により、OGPTag Tg マウスで卵巣癌の発症を確認した。すなわち、OGPTag Tg マウスの卵管を摘出したら卵巣癌にならないか、OGPTag Tg マウスの卵巣を同腹仔あるいは野生型マウスの卵巣で置換しても卵巣は発症するか、同腹仔あるいは野生型マウスの卵巣に置換された OGPTag Tg マウスの卵巣に腫瘍が発生するかを検討した。

(3) OGPTag Tg マウスの卵管、または卵巣腫瘍組織より上皮細胞を分離培養し、新規な細胞株を樹立した。樹立された細胞株を用いた腹腔内移植による自然卵巣癌腹膜転移

モデルの作製を試みた。

4. 研究成果

OGPTag Tg 雌マウスは 8-10 週まで、56% の卵巣癌の発症率を持ち、人高悪性度の漿液性卵巣腺癌と似た組織病態変化を示した。また、OGPTag Tg マウスの卵管を摘出したら卵巣癌を発症しなかったことから、OGPTag Tg マウスは、卵管上皮由来卵巣癌を発症する動物モデルとして確立できた。さらに、OGPTag Tg マウスの卵管、または卵巣腫瘍組織より上皮細胞を分離培養し、これらの細胞は上皮由来性腫瘍マーカーCK8、または卵管特異的なタンパク OGP の発現は陽性であった。卵巣腫瘍組織より樹立された細胞株の腹腔内移植ではマウス腹腔内細胞の集積が認めなかったから自然卵巣癌腹膜転移モデルの作製は今後の課題となった。

上皮性卵巣癌は早期から腹膜転移を起こしやすく、婦人科悪性腫瘍の中でも最も予後不良な癌種である。卵巣癌の発癌過程がまだ不明であるため、他臓器の悪性腫瘍で分子標的薬の開発が急速に進んでいる中、卵巣癌の治療法の開発が遅れており治療成績に影響を及ぼす。その新規治療法および予防法の開発には卵巣癌の発生メカニズムを解明することが必須となる。卵巣漿液性腺癌の発生源は卵管上皮であるという新たな仮説が提唱されている状況のもと、卵管上皮由来の卵巣癌を発症する動物モデルの確立は強く望まれている。本モデルを用いて、将来的には卵管上皮由来卵巣癌の発生の予防と治療法の開発に応用可能である。

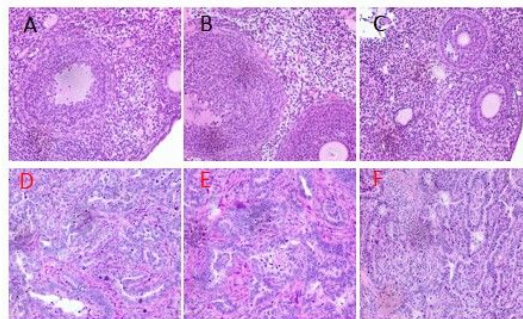
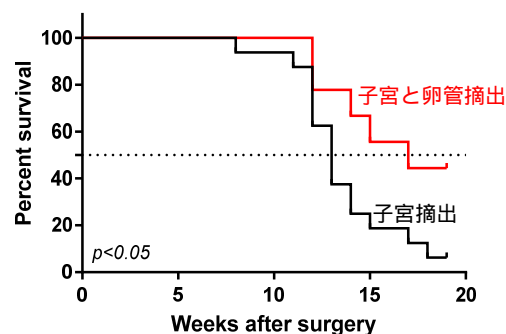


Figure 1 病理形態学による解析

若年(4週齢)マウスにて子宮・卵管全摘出により卵巣がんの発症が認められなかったが、子宮摘出マウスでは異型度が高い卵巣漿液性腺癌の組織形態学が見られた。

Figure 2. Survival curves for the overall survival after surgery.



卵管の摘出によりマウスの生存率が有意に改善された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)
Sherman-Baust CA, Miyoshi I (14名, 9番目): A genetically engineered ovarian cancer mouse model based on fallopian tube transformation mimics human high-grade serous carcinoma development. J Pathol. 2014 Jul;233(3):228-37. doi: 10.1002/path.4353.

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

取得状況（計 0 件）

6 . 研究組織

(1)研究代表者

趙 娟 (ZHAO, Juan)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：20381890

(2)研究分担者

三好 一郎 (MIYOSHI, Ichiro)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10183972

山下 依子 (YAMASHITA, Yoriko)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：90303643