

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11272

研究課題名(和文) Oncofertilityの視点に基づく抗がん剤からの卵巣機能保護に関する研究

研究課題名(英文) Research on prevention of chemotherapy-induced ovarian damage

研究代表者

村上 節 (MURAKAMI, TAKASHI)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：20240666

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：非担癌マウスモデルを用いて、シスプラチンにmTOR阻害剤を併用することで、シスプラチンによる卵巣毒性から卵巣機能を保護することを明らかにした。またその機序はシスプラチンによる卵胞の過剰な活性化の防止と成長中の卵胞におけるアポトーシスの防止を両立することであると考えられた。シクロホスファミドの卵巣毒性を評価するトリプルネガティブ乳癌移植マウスモデルを確立した。このモデルを用いて、シクロホスファミドとmTOR阻害剤の併用は、シクロホスファミドの抗腫瘍効果を少なくとも妨げず、かつ発育卵胞数を調節することにより、卵巣保護作用を持つことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のがん治療法の進歩に伴い、小児若年がんの治療成績は著しく向上した。しかしながら、現在のがん治療は、手術療法、化学療法と放射線療法を組み合わせた集約的な治療が主体であり、がんサバイバーは、大なり小なり治療後の身体的影響を受ける。その中でも性腺機能の低下は妊孕能を失う恐れがある極めて重要な問題である。

本研究では、とくに乳がんの化学療法にmTOR阻害剤を併用することで、卵巣機能が温存され、将来のQOLの改善が見込まれることを示した。この成果は、がんサバイバーのみならず、Oncofertilityの医療に従事するがん診療従事者ならびに生殖医療従事者の負担も低減できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We found that the combined use of mTOR inhibitors with cisplatin protects ovarian function from cisplatin-induced ovarian toxicity in mice. We showed that the mechanism was to prevent both excessive activation of follicles by cisplatin and apoptosis induction of developing follicles.

Then we established a triple-negative breast cancer-transplanted mouse model to evaluate ovarian toxicity of cyclophosphamide. Using this model, it was revealed that the combination of cyclophosphamide and an mTOR inhibitor has an ovarian protective effect by regulating the number of developing follicles without at least not interfering with the antitumor effect of cyclophosphamide.

研究分野：産科学婦人科学分野

キーワード：卵巣毒性 卵巣機能温存 乳癌 がん妊孕 シクロホスファミド mTOR阻害剤 シスプラチン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年のがん治療法の進歩に伴い、小児がん、若年がんの治療成績は著しく向上した。しかしながら、現在のがん治療は、手術療法のみならず強力な化学療法と放射線療法を組み合わせた集約的な治療が主体であり、がんサバイバーは、その同胞と比較して数多くの晩期合併症に悩むことが報告されている (Oeffinger KC, et al. N Engl J Med. 2006)。その中でも、若年女性における卵巣機能の低下は、卵巣機能欠落症状に起因する日常の健康状態の不調や骨粗鬆症による易骨折性など直接的な身体的影響のみならず、妊孕能を失うという決定的な喪失感に基づく心理的・精神的な悪影響ももたらし、生活の質 (Quality of Life) を低下させる極めて重要な問題と言える。

### 2. 研究の目的

シクロホスファミドの卵巣毒性は PI3K/PTEN/Akt シグナル伝達系の活性化に起因するということが報告され、このシグナル伝達系のリン酸化を抑えることが卵巣毒性の軽減につながることを期待される。PI3K、Akt の活性阻害薬としては、各々サルビアノール酸、ジインドリルメタンが知られており、また、Akt は mTOR (mammalian target of rapamycin) 複合体 1 を誘導することから、mTOR 阻害薬であるラパマイシンとその類似体も有力な候補となり得ると考えられる。ところで、卵巣機能保護候補薬になり得たとしても、実臨床の場で応用するためには、本来の目的であるがんに対する治療効果を損ねるものであってはならない。幸い mTOR 阻害薬は抗腫瘍効果を示すことが知られており、がんに対する相乗効果も期待できる。本研究では、担がんマウスを用いて、がん治療効果と卵巣毒性の軽減効果が両立する薬剤を選定することを目的とする。

### 3. 研究の方法

7 週齢の C57BL/6J マウスをコントロール群、シスプラチン投与群、mTOR 阻害薬投与群、mTOR 阻害薬及びシスプラチン併用投与群の 4 群に割り付け、シスプラチン 2 mg/kg は 15 日間連続腹腔内投与し、mTOR 阻害薬を投与する群ではエベロリムスをシスプラチン投与前から投与後 1 週間まで計 29 日間胃管投与した。エベロリムスの最終投与の翌日に卵巣を切除し組織学的に卵巣の各種卵胞数を計測し比較した。

4 週齢の BALB/c nu/nu マウス背部皮下に乳癌細胞株の MDA-MB-231 を  $5 \times 10^6$  個の細胞数で移植した。移植後 12 週待機して生着を確認後、コントロール群、シクロホスファミド投与群、mTOR 阻害薬及びシクロホスファミド併用投与群の 3 群に割り付けた。シクロホスファミドを投与する群では 100 mg/kg のシクロホスファミドを腹腔内投与法にて週 1 回、3 回投与した。mTOR 阻害薬を投与する群ではラパマイシンをシクロホスファミド投与 1 週間前から投与後 1 週間まで、連日腹腔内投与した。週 2 回腫瘍体積と体重を評価し、腫瘍体積については実験初日の腫瘍体積との比を評価基準とした。ラパマイシンの最終投与の翌日に卵巣を切除し組織学的に卵巣の各種卵胞数を計測し比較した。

### 4. 研究成果

シスプラチン群はコントロール群より有意に複数種の卵胞数が少なく、mTOR 阻害薬及びシスプラチン併用投与群はシスプラチン群より有意に複数種の卵胞数が多く、コントロール群と mTOR 阻害薬及びシスプラチン投与群の卵胞数はおおむね同等であった。体重や死亡率などで薬剤毒性については、シスプラチン投与群は非シスプラチン投与群に比べ有意な体重減少を認めたのに対し、エベロリムス投与群は非エベロリムス投与群と比べ体重に有意差を認めなかった。次に卵巣重量と卵巣径の計測で卵巣への影響を調べた。結果としてはいずれもシスプラチン群はコントロール群より値が低く、mTOR 阻害薬及びシスプラチン併用投与群はシスプラチン群より値が高く、コントロール群と mTOR 阻害薬及びシスプラチン投与群の卵胞数は同等であった。以上より、mTOR 阻害薬であるエベロリムスはシスプラチンのマウスに対する卵巣毒性を、全身毒性を上乗せすることなく改善すると結論づけられた。

腫瘍体積比はコントロール群で明らかにシクロホスファミド群より高く、シクロホスファミド群とシクロホスファミド mTOR 阻害薬併用群では差がないか、やや併用群の方がすくなかった。シクロホスファミド群はコントロール群より卵胞数が少なく、mTOR 阻害薬及びシクロホスファミド併用投与群はシクロホスファミド群より卵胞数が多かった。一次卵胞/原始卵胞の比はシクロホスファミド群でコントロール群より高く、シクロホスファミドと mTOR 阻害薬併用群ではそれより低かった。体重減少や死亡などの全身毒性は認めなかった。以上より担癌マウスモデルにおいてシクロホスファミドは高い卵巣毒性を持つこと、mTOR 阻害薬はシクロホスファミドの卵巣毒性を阻害し高い卵巣保護作用を持つことが示された。また、少なくとも mTOR 阻害薬はシクロホスファミドの抗腫瘍効果を妨げないと考えられた。

以上、本研究では、シスプラチンやシクロホスファミドなどの抗がん剤による卵巣毒性を、mTOR 阻害薬を併用することにより、治療効果を損なわずに低減する可能性を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanaka Y, Kimura F, Zheng L, Kaku S, Takebayashi A, Kasahara K, Tsuji S, Murakami T.	4. 巻 67
2. 論文標題 2. 論文標題 Protective effect of a mechanistic target of rapamycin inhibitor on an in vivo model of cisplatin-induced ovarian gonadotoxicity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Experimental Animals.	6. 最初と最後の頁 493-500
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1538/expanim.18-0042.	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuji Tanaka, Fuminori Kimura Shoji Kaku, Tsukuru Amano, Akie Takebayashi, Akimasa Takahashi, Kyoko Kasahara, Shunichiro Tsuji, Takashi Murakami
2. 発表標題 Protective effect of a mechanistic target of rapamycin inhibitor on an in vivo model of cisplatin-induced ovarian gonadotoxicity
3. 学会等名 The 17th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔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	郭 翔志 (Kaku Shoji) (50464178)	滋賀医科大学・医学部・助教  (14202)	
研究分担者	木村 文則 (Kimura Fuminori) (90322148)	滋賀医科大学・医学部・准教授  (14202)	