

平成 21 年 5 月 30 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591906

研究課題名 (和文) 抗癌剤誘発卵巣機能障害に対する抗癌剤特異的予防内分泌療法の開発

研究課題名 (英文) PREVENTIVE ENDOCRINE THERAPY FOR ANTICANCER DRUG-INDUCED
OVARIAN FAILURE

研究代表者

宇都宮 智子 (UTSUNOMIYA TOMOKO)

和歌山県立医科大学医学部・助教

研究者番号 60382355

研究成果の概要：

抗癌剤 CPT-11 を用いた抗がん剤化学療法中の女性患者に高率に更年期障害や続発性無月経が誘発されることに気づいた。そこで、臨床内分泌学的に患者のホルモン変動から抗がん剤の副作用発症機序を仮説し、マウス動物実験で証明した。さらに、その分子機序を遺伝子改変マウスを用いて解明した。分子機序からホルモン制御療法で予防できる可能性を予測し、マウス動物実験モデルで、抗癌剤による卵巣機能障害が内分泌療法で有意に抑制できることを証明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：抗がん剤・卵巣機能障害・CPT-11・予防

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤による性腺機能障害は半永久的卵巣組織障害が発生することで、抗がん剤治療後がん患者が不妊症や性腺機能障害を発症することは予想されていた。その分子機序は明らかでなく、これまでは癌患者の予後が悪かったことから、予防機序を開発するまでは至っていなかった。しかし、最近の抗がん剤化学療法の進歩は、かなりの進行期癌患者も完治する症例が増加してきた。そのため、これまでは軽視されてきた性腺機能障害・不

妊症という治療後遺症の発症を軽減する方法・予防する方法の発見・開発が必要となってきた。

抗癌剤治療の進歩の一方で、女性においては抗癌剤治療の後遺症として卵巣機能廃絶にともなう早発閉経と永久不妊症が臨床的な大きな問題となってきている。抗癌剤による卵巣機能障害を回避するために、卵巣組織を抗癌剤治療中のみ一時的に抗癌剤不応性状態に保つ方法が理論的に考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、実際のがん患者の臨床経過から、高率に卵巣機能障害を誘発する抗がん剤を発見し、動物実験でその仮説の実証を試みると同時に分子機序を解明し、さらにはその予防方法の確立を目指したものである。

(1)抗がん剤投与後のヒト卵巣組織の病理学的解析から、抗がん剤の種類と傷害細胞の部位を同定する：術前抗がん剤治療を受けた正常卵巣の病理組織学的検討から抗がん剤種類と卵巣障害の差異を明らかにする。①抗がん剤の種類別に卵巣細胞障害部位を同定すること、②抗がん剤の種類別に卵巣細胞障害タイプを明らかにすること、③抗がん剤の種類別に卵巣細胞死関連分子を同定すること、の3点を目的とする。

(2)動物実験による抗がん剤誘発卵巣顆粒膜細胞傷害の証明とその分子機序を解明する：今回の研究では、ヒトの臨床検体から候補となるキーマル分子を動物実験で、さらに抗がん剤の投与条件を変えて、同定と分子機構を明らかにする。

(3)動物実験による抗がん剤誘発卵巣顆粒膜細胞傷害の予防法を確立する：GnRH agonist 療法の臨床応用を考えるためのより詳細な至適投与条件を決定する。(4)遺伝子改変マウスを用いた動物実験により、各種抗がん剤による卵巣機能障害のキーマル分子を同定する：この分子の同定は、将来的に分子標的治療への道をつけることになる。

3. 研究の方法

(1) 抗がん剤 CPT-11 (塩酸イリノテカン) を投与されたがん患者の臨床的研究：抗がん剤治療中のがん患者の内分泌学的解析、抗がん剤投与後に卵巣摘出手術を受けたがん患者の卵巣の病理組織学的解析を行った。

(2) マウス動物実験による CPT-11 注射による卵巣機能障害の実証：MCH マウスに性周期をシンクロするために PMSG 注射し、その後 CPT-11 を1回腹腔内注射した。投与量は人間の体重あたりの治療的投与量に匹敵する量とした。CPT-11 注射マウスから卵巣を摘出し、TUNEL 染色および免疫組織化学解析を行った。

(3) マウス卵巣の器官培養を行い、CPT-11 およびその活性代謝物である SN38 の直接効果を検証した。

(4) マウスに GnRHa を注射し、その後 CPT-11 を注射し、(2) と同様の卵巣解析を行った。GnRHa 投与マウスの血中 estradiol 値を測定した。

(5) マウスに GnRHa を注射し、その後 CPT-11 を反復注射し、交配実験を行い、出生子数と奇形マウス発生率を検討した。

(6) 遺伝子改変マウス実験：

death-associated protein kinase (DAPK) の kinase domain 欠損マウスを用いて、CPT-11 投与実験を行い、その卵巣の組織学的解析を行った。

4. 研究成果

注意：研究期間中に大学附属動物実験施設内のマウス肝炎ウイルスの流行事件が発生したために、動物実験がかなり中断されたため、個体実験の進行がかなり妨げられた。

(1) がん患者の臨床内分泌学的解析と病理組織学的解析から、抗がん剤 CPT-11 は高率に卵巣顆粒膜細胞傷害を誘発していることが仮説された。

(2) マウスへの CPT-11 投与実験は、濃度依存性に CPT-11 はマウス卵巣の中～大卵胞顆粒膜細胞特異的にアポトーシスを誘発することが証明された。このアポトーシスは顆粒膜細胞に FasL 発現が誘導することで、構成的発現をしている Fas 抗原と特異的応答を誘発し、細胞死に至るものと証明された。

(3) マウス卵巣器官培養実験結果からは、顆粒膜細胞アポトーシスは CPT-11 でも SN38 でもない第3の物質により誘発されていることが証明された。

(4) マウスへの GnRHa 注射は CPT-11 による卵巣卵胞アポトーシス発生を有意に抑制した。同時に CPT-11 による FasL 発現誘導が抑制された。しかし、GnRHa 投与マウスの血清 estradiol レベルは抑制されていなかったことから、GnRHa は顆粒膜細胞の FSH 刺激後細胞分裂抑制ではなく、直接的あるいは間接的機序で FasL 発現を抑制することが作用機序の一つであることが判明した。

(5) GnRHa 投与マウスへの CPT-11 反復投与マウスの卵巣卵胞は有意の温存されており、その後の妊娠では奇形児発症増加は認められなかった。

(6) DAPK 遺伝子改変マウスでは有意に CPT-11 誘発卵胞顆粒膜細胞アポトーシスが抑制された。しかし、CPT-11 による FasL 発現は抑制されておらず、CPT-11 誘発卵胞顆粒膜細胞アポトーシスの細胞内シグナルには DAPK が重要な役割を担っていることが実証された。

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14件)

[1] Li L, Tanaka T, Yukawa K, Akira S, Umetsaki N: Irinotecan-induced ovarian follicular apoptosis is attenuated by

deleting the kinase domain of death-associated protein kinase. International Journal of Oncology 34: 905-914, 2009. 査読有り

[2] Utsunomiya T, Tanaka T, Utsunomiya H, Umesaki N: Direct effects of CPT-11 and SN38 on ovarian granulosa cells. Molecular Medicine Reports 2: 189-192, 2009. 査読有り

[3] 田中哲二: 知っておきたい今日のホルモン療法: 閉経とエストロゲン 産婦人科治療 2009 増刊:64-68. 産婦人科治療 98: 504-508, 2009. 査読なし

[4] Tanaka T, Umesaki N: Complete remission of OC-resistant catamenial shoulder joint pain and inguinal pain associated with extraperitoneal endometriosis following personalized GnRH agonist therapy. Clinical & Experimental Obstetrics and Gynaecology 36(1): 46-48, 2009. 査読有り

[5] Utsunomiya T, Tanaka T, Utsunomiya H, Umesaki N: A novel molecular mechanism for anticancer drug-induced ovarian failure: Irinotecan HCl, an anticancer topoisomerase I inhibitor, induces specific FasL expression in granulosa cells of large ovarian follicles to enhance follicular apoptosis. International Journal of Oncology 32: 991-1000, 2008. 査読有り

[6] Tanaka T, Utsunomiya T, Utsunomiya H, Umesaki N: Irinotecan HCl, an anticancer topoisomerase I inhibitor, frequently induces ovarian failure in premenopausal and perimenopausal women. Oncology Reports 19:1123-1133, 2008. 査読有り

[7] Yukawa K, Tanaka T, Takeuchi N, Waki H, Kohsaka A, Maeda M: Controlling death-associated protein kinase activity to protect kidney cell suicide in renal ischemia-reperfusion injury. Japanese Journal of Clinical Physiology 38: 1-8, 2008. 査読有り

[8] Tanaka T, Toujima S, Utsunomiya T, Yukawa K, Umesaki N: Experimental characterization of recurrent ovarian immature teratoma cells after optimal surgery. Oncology Reports 20(1): 13-24, 2008. 査読有り

[9] 田中哲二, 宇都宮智子, 梅咲直彦: 外来診療患者の内分所見からみた閉経後卵巣のエストロゲン産生能力. 産婦人科の進歩 60: 24-26, 2008. 査読有り

[10] 田中哲二: 不妊治療、早発卵巣不全 (POF) への対処は? : 閉経患者の内分動態から考案した早発卵巣不全 (POF) の排卵

誘発法. 臨床婦人科産科 62: 474-481, 2008. 査読なし

[11] 宇都宮智子, 田中哲二, 粉川克司, 梅咲直彦: 早発卵巣不全患者の1不妊治療経験. 産婦人科の進歩 60: 19-21, 2008. 査読有り

[12] Tanaka T: Long-term personalized GnRH agonist therapy without estrogen supplementation for recurrent endometriotic catamenial pneumothorax -case report. Clinical & Experimental Obstetrics and Gynaecology, 34: 179-181, 2007. 査読有り

[13] 宇都宮智子, 田中哲二, 梅咲直彦, 宇都宮洋才: Topoisomerase I inhibitor 誘発卵巣顆粒膜細胞アポトーシスにおける BCL-2 family の発現. 日本受精着床学会雑誌 24(1): 38-42, 2007. 査読有り

[14] 田中哲二, 宇都宮智子, 南佐和子, 八木重孝, 粉川克司, 梅咲直彦, 宇都宮洋才: 抗癌剤誘発卵巣障害を予防するための GnRH agonist 療法と GnRH agonist 感受性の個人差. 日本受精着床学会雑誌 24(1): 54-58, 2007. 査読有り

[学会発表] (計12件)

[1] 田中哲二: 抗癌剤 CPT-11 による急激な卵巣加齢促進作用に関するインフォームドコンセントの必要性 第9回日本抗加齢医学会総会 2009年5月27日~29日 (ホテル日航東京・東京)

[2] 田中哲二: CPT-11 併用癌化学療法に頻発する卵巣機能不全の発生機序 第82回日本内分泌学会学術総会 2009年4月23日~25日 (群馬県民会館・前橋市)

[3] 宇都宮智子, 田中哲二, 梅咲直彦: 塩酸イリノテカン (CPT-11) 治療にともなう卵巣機能不全の分子生物学的機序 第61回日本産科婦人科学会総会・学術講演会 2009年4月3日~4月5日 (国立京都国際会館・京都市)

[4] 田中哲二, 梅咲直彦: 子宮頸癌細胞の塩酸イリノテカン (CPT-11) 耐性獲得機序における death-associated protein kinase (DAPK) の意義 第61回日本産科婦人科学会総会・学術講演会 2009年4月3日~4月5日 (国立京都国際会館・京都市)

[5] 田中哲二: 塩酸イリノテカン (CPT-11) 併用化学療法に起因する早発卵巣機能不全誘発のリスクとインフォームドコンセントの必要性. 2008年11月15日~11月16日 第23回日本更年期医学会学術集会 (ワークピア横浜・横浜市)

[6] 田中哲二: 自然閉経過程の内分学的多様性と更年期障害の発症機序に関する一考察. 2008年9月25日 第59回和歌山内分代謝研究会・講演会 (和歌山県立医科大学、和歌山市)

[7] 田中哲二、梅咲直彦：仮説：CPT-11由来の第2活性代謝産物が存在する 平成20年7月17日～19日 第44回日本婦人科腫瘍学会（名古屋国際会議場、名古屋）

[8] 田中哲二、宇都宮智子、梅咲直彦：抗癌剤CPT-11併用化学療法中の視床下部一下垂体一卵巣内分泌系病態に関する臨床内分泌学的研究. 2008年4月12-15日 第60回日本産科婦人科学会学術講演会（横浜パシフィコ、横浜市）

[9] 田中哲二、宇都宮智子、李莉、梅咲直彦：抗癌剤治療に伴う性腺機能障害の分子機序と予防療法. 2008年3月27日 第58回和歌山内分泌代謝研究会・講演会（和歌山県立医科大学、和歌山市）

[10] Umesaki N, Tanaka T: Long-term personalized GnRH agonist therapy without estrogen supplementation for recurrent extraperitoneal endometriosis. Feb 28-March 2, 2008. (Florence, Italy), 13th World Congress of Gynecological Endocrinology

[11] Umesaki N, Tanaka T: Long-term personalized GnRH agonist therapy without estrogen supplementation for recurrent extraperitoneal endometriosis. Feb 28-March 2, 2008. (Florence, Italy), 13th World Congress of Gynecological Endocrinology

[12] 田中哲二：「テーラーメイドCPT-11化学療法のすすめ 一標準CPT-11療法プロトコールの大きな落とし穴」 2008年2月2日 第8回CPT-11学術講演会（大阪全日空ホテル、大阪市）

[図書] (計1件)

田中哲二：外来がん化学療法を安全に実施するための”テーラーメイドG-CSF療法”先端医学社、東京、2009. 170頁

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇都宮 智子 (UTSUNOMIYA TOMOKO)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 60382355

(2) 研究分担者

田中 哲二 (TANAKA TETSUJI)
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号 80275255

湯川 和典 (YUKAWA KAZUNORI)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号 20391434 「19年度」

粉川 克司 (KOKAWA KATSUJI)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号 80254548 「19年度」

池島 美和 (IKEJIMA MIWA)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 70433349 「19年度」

帽子 英二 (BOUSHI EIJI)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 60433348 「19年度」

馬淵 泰士 (MABUCHI YASUSHI)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 80382357 「19年度」

(3) 連携研究者

梅咲 直彦 (UMESAKI NAOHICO)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号 20106339

池島 美和 (IKEJIMA MIWA)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 70433349 「20年度」

馬淵 泰士 (MABUCHI YASUSHI)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 80382357 「20年度」

(4) 研究協力者

宇都宮 洋才 (UTSUNOMIYA HIROTOSHI)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号 60264876

李 莉 (Li Li)
和歌山県立医科大学・医学研究科大学院学生
研究者番号 未取得 (外国人留学生)