

令和元年6月11日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19588

研究課題名(和文) 卵巣がん病態における生体内微量元素の機能と役割の体系的解析

研究課題名(英文) Systematic analysis of a function and the role of the very small amount of metallic elements in the ovarian cancer patients

研究代表者

吉田 好雄(Yoshida, Yoshio)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：60220688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：ovarian cancer (OC)はnon-endometrial cystやendometrial cyst (EM)と比較して腹水中のCu濃度が高値であり、さらに腹水中のCu濃度は腹水中のVEGF濃度と相関していることを示した。このため、腹水中のCuは、新たな卵巣癌の治療ターゲットを模索する鍵となる可能性がある。我々は腹水中Cuが良性卵巣腫瘍とOCとの間で有意な差を認めることを初めて示した。OCは良性疾患であるNEMと比較して腹水中のMg, Fe, Cuは全て高値であった。しかし、EMとの比較においては、腹水中FeとMgでは差を認めず、Cuのみが高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な分子標的薬の開発がなされているが、極めて高価である。必須元素の変動は食事摂取や各種のキレート剤により治療が可能である。高Cu血症については、Wilson病の治療薬であるCuキレート剤により治療することができる。悪性腫瘍では血清中でCuが高値であることから、既にCuキレート剤を用いて治療を行う試みが行われている。しかし、未だ明らかな有効性は証明されていない。これは、癌組織局所におけるCu低下に持続性がないことや、血清Cuの著しい低下が全身性の副作用を引き起こす可能性があるためと考えられている。我々の研究から局所Cuをターゲットとし、全身のCu低下を抑えた治療を行うことができる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to demonstrate the relationships among Mg, Fe, and Cu in ascites and ovarian cancer (OC), to compare these elements across non-endometrial cyst (NEM), endometrial cyst (EM), and OC, and to clarify the relationship between these elements in ascites and VEGF expression in ascites in OC. We performed patients who underwent surgery for ovarian tumor. Mg was measured by chelating assay using the xylydyl blue method. Fe was measured by chelating assay using the nitroso-PSAP method. Cu was measured by atomic absorption spectrometry. The VEGF levels in ascites were measured with a sandwich enzyme immunoassay technique. Patients with OC had higher Cu concentration than those with NEM and EM ($p=0.003$). In addition, significant correlations between Cu concentration in ascites and VEGF in ascites were found in OC (correlation coefficient 0.456, $p=0.025$). Cu in ascites was associated with OC and played an important role in the production of VEGF in ascites.

研究分野：婦人科がん 卵巣がん

キーワード：卵巣がん Cu VEGF

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

卵巣がんは、抗がん剤を含めた様々な薬物治療法の開発にもかかわらず予後不良である。その原因に、早期の薬剤抵抗性の獲得がある。腹腔内に腫瘍が進展している進行卵巣がんの場合 70~80% に薬剤抵抗性が出現する (Nat Rev Clin Oncol 2013)。これまでこの薬剤抵抗性克服のために、細胞・分子生物学レベルで様々な解析がなされてきたが、まだ、多くの解明されていない問題点がある。最近、卵巣がん罹患率・死亡率増加の原因に、ライフスタイルや生活環境などに起因する可能性の疫学調査が報告された (Lancet 2014)。摂取する食事・水・サプリメントや生活環境は、体内の微量元素レベルに多大な影響を与えることはよく知られた事実である。本研究では先行研究とは異なり、卵巣がんの発生・進展の舞台である腹腔内において、腹水・腹膜の微量元素の網羅的に測定及び解析し、卵巣がんの発生・進展や薬剤耐性との関連性を、生体を構成する元素、とくに微量元素の機能と役割を体系的に解明する メタロミクス という新しい視点から、解析しようとする極めて挑戦的かつ萌芽的な試みである。

2. 研究の目的

卵巣がんの発生・進展の舞台である腹腔内において、腹水・腹膜の微量元素の網羅的に測定及び解析を行い、卵巣がんの発生・進展や薬剤抵抗性との関連性を、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS: Inductively Coupled Plasma- Mass S) を用いて、生体を構成する元素、とくに微量元素の機能と役割を体系的に解明するメタロミクスという新しい視点から、解明しようとする極めて挑戦的かつ萌芽的な試みである。

3. 研究の方法

福井大学病院で、2016年1月から2018年12月の間に卵巣腫瘍に対して手術を行った患者に対して、横断的観察研究で行った。全ての患者はサプリメント及び OTC を手術の2週間以上前に中止していた。福井大学病院の二人の病理専門医が摘出された標本の病理診断を行った。病理診断で卵巣腫瘍が確認された症例をこの研究に組み入れた。除外基準は次の通り；摘出標本で卵巣腫瘍が確認されない患者、細菌性腹膜炎、腎不全、肝硬変、ステロイドホルモンの使用、免疫抑制剤の使用。さらに、転移性卵巣癌患者も除外した。子宮内膜症性嚢胞は他の卵巣腫瘍と異なり、卵巣癌へと悪性転化を起こす可能性が高いなど、他の良性卵巣腫瘍とは異なる性質を有する。特に、日本人では卵巣子宮内膜症性嚢胞の癌化が多い。そこで、我々は良性腫瘍を非内内膜症性嚢胞 (NEM) と内内膜症性嚢胞 (EM) へ分けて解析した。また悪性腫瘍は卵巣癌 (OC) と境界悪性腫瘍に分けられる。我々は解析から境界悪性腫瘍患者を除外した。この理由は、境界悪性卵巣腫瘍は卵巣癌と比較して、きわめて良好な予後を有しているためである。私たちはすべての患者から書面によるインフォームドコンセントを得た。この研究は福井大学倫理委員会で承認されている (No. XXXXXX)

Sample collection 我々は腹水を手術の開始直後に採取した。腹腔鏡下手術の際には、トロカール配置後にサクシオンチューブを用いてダグラス窩から腹水を採取した。また、開腹手術の際にも、腹膜切開後にサクシオンチューブを用いてダグラス窩から腹水を採取した。我々は採取した腹水を、0.5ml 毎にポリエチレンのチューブに分注した。我々は解析までの間そのチューブを-30度の冷凍庫に保存した。我々は年齢、閉経、BMI (kg/m²)、たばこの使用、アルコール摂取、3か月以内のサプリメント及び OTC の使用のデータを収集した。OC の患者については、病理組織型と FIGO 2014 で定められた卵巣癌進行期のデータを収集した。OC の進行期は婦人科腫瘍専門医が手術時の観察により決定した。*Measurement method* 腹水中 Mg は xylydyl blue 法によるキレートアッセイで測定した。腹水中 Fe は nitroso-PSAP 法を用いたキレートアッセイで測定した。腹水中 Cu は atomic absorption spectrometry (AAS) で測定した。腹水中 VEGF は sandwich enzyme immunoassay technique (Quantikine, R&D systems) で測定した。全ての測定はマニュアルに基づいて行われた。

4. 研究成果

Patients' characteristics 私たちは、2016年1月から2018年12月の間に、福井大学病院で卵巣腫瘍に対して手術を行った123人より腹水を採取した。このうち88人が良性腫瘍であった。その中で59人がNEMで、29人がEMであった。NEMグループの病理組織診の詳細はSupplementary materialに示した。また、35人が悪性腫瘍であった。11人が境界悪性卵巣腫瘍であったため、この患者は解析から除外した。残りの24人がOCであった。グループを比較する際にはP値はBonferroni法による補正を行った。年齢はNEMとOCを比較すると、NEMが優位に低かった($p=0.009$)。さらにEMとOCを比較すると、EMが優位に年齢が低かった($p<0.001$)。EMはNEM及びOCと比較して優位に閉経の割合が低かった(NEM vs EM $p=0.005$, EM vs OC $p<0.001$)。NEMはOCと比較して優位に閉経の割合が低かった(NEM vs OC $p=0.018$) *Essential element concentration in ascites* グループを比較する際にはP値はBonferroni法による補正を行った。Mg concentration in ascites 腹水中のMg濃度はNEMとEMと比較してOCが最も高値であった (median 2.1 mg/dL, range 0.7-5.0 mg/dL)。腹水中のMg濃度はNEMと比較してEMは有意に高値であった($p=0.048$)。さらにNEMと比較してOCは優位に高値であった($p=0.008$)。しかしながら、EMとOCを比較しても有意差は無かった($p=0.498$)。Fe concentration in ascites EMとOCはNEMと比較して腹水中のFeが1.7倍高値であった。腹水中のFe濃度はNEMと比較してEMは有意に高値であった($p=0.002$)。さらにNEMと比較してOCは優位に高値であった($p<0.001$)。しかしながら、EMとOCを比較しても有意差は無かった($p=0.909$)。Cu concentration in ascites 腹水中のCu濃度はNEMとEMと比較してOCが最も高値であった (median 82.8 μ g/L, range 24-139 μ g/L)。OCはNEMと比較して有意に腹水中のCu濃度が高値であった($p=0.005$)。さらにOCはEMと比較して有意に腹水中のCu濃度が高値であった($p=0.007$)。 *Odds ratio of element concentration in ascites of the NEM, EM, and OC groups* NEMとEMに対するOCの腹水中のMg, Fe, Cu濃度のオッズ比をTable 4に示した。NEMとOCの間では、Mg, Fe, Cu濃度の全てでオッズ比について有意差を認め、年齢と閉経での調整後も同様に有意差を認めた。EMとOCの間ではCu濃度でのみオッズ比で有意差を認め、年齢と閉経での調整後も同様に有意差を認めた。 *Relation between VEGF and essential elements and clinical stage in ascites in the OC group* 卵巣癌の中では明細胞癌が最も多く、その次が漿液性癌であった。41%以上の患者が 期であった。臨床進行期は腹水中のVEGF濃度と有意な相関を認めなかった。腹水中のCu濃度は腹水中のVEGF濃度と有意な相関を認めた(Table 5)。

5. 主な発表論文等

現在 論文作成中である

〔雑誌論文〕(計 18 件)

1. H.Kawamura, K.Nishijima, K.Fujii, S.Tamura, J.Takahashi, Y.Yoshida: Prenatal progressive cardiomegaly and functional pulmonary atresia on one fetus of monochorionic diamniotic twin pregnancy regardless of spontaneous resolution of isolated polyhydramnios. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 58(1):51-52. 2019. Doi. 10.1016/j.tjog.2018.11.009. (査読有)
2. T.Kurokawa, T Onuma, A.Shinagawa, Y.Chino, M.Kobayashi, Y.Yoshida: The ideal strategy for cervical cancer screening in Japan: Result from the Fukui Cervical Cancer Screening Study. *Cytopathology.* 29(4):361-367. 2018. Doi. 10.1111/cyt.12576. (査読有)
3. N.Kosaka, Y.Fujiwara, T.Kurokawa, T.Matsuda, M.Kanamoto, N.Takei, K.Takata, J.Takahashi, Y.Yoshida, H.Kimura: Evaluation of retained products of conception using pulsed continuous arterial spin-labeling MRI: clinical feasibility and initial results. *MAGMA.* 31(4):577-584. 2018. Doi. 10.1007/s10334-018-0681-0. (査読有)
4. K.Hattori, M.Orisaka, S.Fukuda, K.Tajima, Y.Yamazaki, T.Mizutani, Y.Yoshida: Luteinizing Hormone Facilitates Antral Follicular Maturation and Survival via Thecal Paracrine Signaling in Cattle. *Endocrinology.* 159(6):2337-2347.2018. Doi.

- 10.1210/en.2018-00123. (査読有)
5. H.Tsuyoshi, Y.Yoshida: Molecular biomarkers for uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma. *Cancer Sci.* 109(6):1743-1752. 2018. Doi. 10.1111/cas.13613. (査読有)
 6. T.Tsujikawa, H.Tsuyoshi, M.Kanno, S.Yamada, M.Kobayashi, N.Narita, H.Kimura, S.Fujieda, Y.Yoshida, H.Okazawa: Selected PET radiomic features remain the same. *Oncotarget.* 9(29):20734-20746. 2018. Doi. 10.18632/oncotarget.25070. (査読有)
 7. 津吉 秀昭, 吉田 好雄: PET-CT画像 : 読影時にピットフォール, 症例検討会で突っ込まれないための“実践的”婦人科画像の読み方. *臨床婦人科産科.* 72(9):855-862. 2018. (査読有)
 8. 津吉 秀昭, 吉田 好雄: 子宮筋腫の MRI/PET による画像診断 - 特に子宮筋腫との鑑別に関して -, 特集 子宮筋腫のすべて. *HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY.* 25(2):35-40. 2018. (査読有)
 9. 清水 可奈子, 西島 浩二, 河原 和美, 坂野 陽通, 吉村 芳修, 柳原 格, 今村 好章, 黒川 哲司, 吉田 好雄: オウム病による国内初の妊産婦死亡例. 産婦人科の実際. 67(4):445-450. 2018. (査読有)
 10. K.Fujii, M.Orisaka, M.Yamamoto, K.Nishijima, Y.Yoshida: Primary intramedullary spinal cord tumour in pregnancy: a case report. *Spinal Cord Ser Cases.* 4:25. 2018. Doi. 10.1038/s41394-018-0059-6. (査読有)
 11. S.Fujiwara, H.Tsuyoshi, T.Nishimura, N.Takahashi, Y.Yoshida: Precise preoperative diagnosis of struma ovarii with pseudo-Meigs' syndrome mimicking ovarian cancer with the combination of 131I scintigraphy and 18F-FDG PET: case report and review of the literature. *J Ovarian Res.* 11(1):11. 2018. Doi. 10.1186/s13048-018-0383-2. (査読有)
 12. M.Yamamoto, Y.Tsujikawa, S.Yamada, T.Kurokawa, A.Shinagawa, Y.Chino, T.Mori, Y.Kiyono, H.Okazawa, Y.Yoshida: 18F-FDG/18F-FES standardized uptake value ratio determined using PET predicts prognosis in uterine sarcoma. *Oncotarget.* 8(14):22581-22589. 2017. Doi. 10.18632/oncotarget.15127. (査読有)
 13. H.Tsuyoshi, VKW.Wong, Y.Han, M.Orisaka, Y.Yoshida, BK.Tsang: Saikosaponin-d, a calcium mobilizing agent, sensitizes chemoresistant ovarian cancer cells to cisplatin-induced apoptosis by facilitating mitochondrial fission and G2/M arrest. *Oncotarget.* 8(59):99825-99840. 2017. Doi. 10.18632/oncotarget.21076. (査読有)
 14. T.Tsujikawa, T.Rahman, M.Yamamoto, S.Yamada, H.Tsuyoshi, Y.Kiyono, H.Kimura, Y.Yoshida, H.Okazawa: 18F-FDG PET radiomics approaches: comparing and clustering features in cervical cancer. *Ann Nucl Med.* 321(9):678-685. 2017. Doi. 10.1007/s12149-017-1199-7. (査読有)
 15. T.Tsujikawa, M.Yamamoto, K.Shono, S.Yamada, H.Tsuyoshi, Y.Kiyono, H.Kimura, H.Okazawa, Y.Yoshida: Assessment of intratumor heterogeneity in mesenchymal uterine tumor by an 18F-FDG PET/CT texture analysis. *Ann Nucl Med.* 31(10):752-757. 2017. Doi. 10.1007/s12149-017-1208-x. (査読有)
 16. H.Tsuyoshi, Y.Yoshida: Diagnostic imaging using positron emission tomography for gynecological malignancy. *J Obstet Gynaecol Res.* 43(11):1687-1699. 2017. Doi. 10.1111/jog.13436. (査読有)
 17. T.Onuma, K.Tajima, K.Sato, K.Hattori, S.Fukuda, T.Tsuji, Y.Yoshida: Clinical significance of atypical squamous cells of undetermined significance after treatment for cervical intraepithelial grade 3 neoplasia: A retrospective single center cohort study. *Mol Clin Oncol.* 7(6):1032-1038. 2017. Doi. 10.3892/mco.2017.1443. (査読有)
 18. K.Kurata, Y.Chino, A.Shinagawa, T.Kurokawa, Y.Yoshida: Surgical Apgar Score predicts 30-day morbidity in elderly patients who undergo nonlaparoscopic gynecologic surgery: A retrospective analysis. *Int J Surg.* 48:215-219. 2017. Doi: 10.1016/j.ijso.2017.11.002. (査読有)

[学会発表](計 19 件)

1. Y.Yoshida: Radiomics and Radiogenomics for gynecologic oncology, Use of Artificial Intelligence Tools in Gynecologic Oncology. 第 60 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会・IGCS2018 (国際学会). 2018
2. H.Tsuyoshi, Y.Yoshida: Diagnostic value of bioactive factors from blood sample for the early detection of sarcoma. 第 60 回

- 日本婦人科腫瘍学会学術講演会・IGCS2018 (国際学会) . 2018
3. M.Yamamoto, S.Yamada, H.Tsuyoshi, T.Kurokawa, Y.Yoshida: Possible role of Micap-mediated iron-dependent cell death in p53 tumor suppression of human cervical cancer. 第 60 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会・IGCS2018 (国際学会) . 2018
 4. 吉田 好雄: 高齢者の周術期管理 (特別講演) . 平成 30 年度山口県産婦人科医会第 2 回研修会. 2018
 5. 吉田 好雄: 産後から始まる骨盤ケア～骨盤臓器脱とサルコペニア～ (教育講演) . 第 59 回日本母性衛生学会総会・学術集会 (招待講演) . 2018
 6. 吉田 好雄: 高齢者の癌治療 (特別講演) . 第 8 回久留米周術期管理フォーラム. 2018
 7. 吉田 好雄: 高齢者の癌治療 (特別講演) . 第 12 回千葉産婦人科臨床問題研究会. 2018
 8. 吉田 好雄: 高齢者の癌治療 (特別講演) . 第 316 回青森県臨床産婦人科医会. 2018
 9. 吉田 好雄: 高齢者のがん治療 (特別講演) . 第 1 回若手世代で婦人科腫瘍診療を考える会～in 四国. 2018
 10. 吉田 好雄: 子宮体がん (肉腫含む) の薬物療法 (教育プログラム) . 第 60 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会・IGCS2018. 2018
 11. 吉田 好雄: 子宮肉腫の診断 (特別講演) . 第 5 回日本婦人科腫瘍学会研修会. 2018
 12. 大沼 利通: 腹腔鏡下手術に必要な術野確保法. 第 3 回福井産婦人科内視鏡手術手技研究会. 2018
 13. T.Onuma: Diagnostic accuracy and features of the gestational sac-like structure in surgical cases of ectopic pregnancy:MRI study. APAGE2017 (18th Annual Congress of the Asia Pacific Association for Gynecologic Endoscopy and Minimally Invasive Therapy) (国際学会) . 2017
 14. 大沼 利通, 黒川 哲司, 品川 明子, 吉田 好雄: HPV 併用検診で発見された NILM かつ CIN3 症例の検討 (地域推薦演題) . 第 58 回日本臨床細胞学会総会 (春期大会) . 2017
 15. 吉田 好雄: 85 歳進行婦人科がん患者さんにあなたはどのような治療を行いますか? (ランチョンセミナー) . 第 14 回日本婦人科がん会議. 2017
 16. 吉田 好雄: 分子イメージング解析による婦人科腫瘍の診断. 第 23 回熊本婦人科悪性腫瘍研究会 (Kumamoto GOG) . 2017
 17. 吉田 好雄: 婦人科肉腫に対する基礎からのアプローチ (ランチョンセミナー) . 第 59 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会. 2017
 18. 吉田 好雄: 画像検査(CT,MRI,PET/CT)(婦人科腫瘍学教育講座) . 第 59 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会. 2017
 19. 吉田 好雄: 高齢者の婦人科がん治療. 第 421 回神奈川産科婦人科学会学術講演会. 2017

〔図書〕(計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 大沼利通

ローマ字氏名 : Toshimichi Onuma

所属研究機関名 : 福井大学

部局名 : 学術研究院医学系部門

職名 : 助教

研究者番号 (8 桁) : 70620483

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。