

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09234

研究課題名(和文) CD44のバリエーションアイソフォームをターゲットとした子宮内膜症の新規治療法の確立

研究課題名(英文) Novel therapeutic approach for endometriosis targeting variant isoforms of CD44

研究代表者

小川 憲二 (OGAWA, KENJI)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：60623494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症は生殖年齢女性の7-10%に発症し、月経困難症や不妊症の原因となり、稀に癌化も来す疾患である。現在の治療法では根治することは困難であり、我々は新規治療方法を開発するために内膜症で起こる酸化・還元反応に注目した。腫瘍内容液のELISA法では子宮内膜症において強い酸化ストレスに晒されている状態が判明した。次に当院で摘出した病理標本を用いてCD44v9、酸化・抗酸化マーカー(8OHdG、HO-1)の発現を免疫組織染色にて検討したところ、子宮内膜症において抗酸化能が高く、明細胞癌において抗酸化能は低下している事、そして抗酸化能が低下するとともにDNA損傷が増大すると思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮内膜症においては、嚢胞内で強い酸化ストレスに晒されている状態であるが、抗酸化作用を持つCD44v9の発現低下によって、酸化ストレスのマーカーである8-OHdGの発現が上昇していると推察された。抗酸化ストレス能の低下が、DNA損傷を増長させ、発癌リスクの上昇となる可能性が考えられ、今後CD44v9の発現低下の機序を明らかにしていくことで子宮内膜症の発生・癌化のメカニズムの解明や、治療法の開発へつなげられる。

研究成果の概要(英文)：Endometriosis occurs in 7-10% of women of reproductive age and causes dysmenorrhea, infertility, and in rare cases, cancer. We focused on the oxidation-reduction reaction that occurs in endometriosis in order to develop a new treatment method. In the ELISA of tumor contents, we found that endometriosis was exposed to strong oxidative stress. Next, we examined the expression of CD44v9, oxidative and antioxidant markers (8OHdG, HO-1) by immunohistochemistry using pathological specimens operated at our hospital. We found that the antioxidant capacity was high in endometriosis and low in clear cell carcinoma, and that DNA damage increased as the antioxidant capacity decreased. It is thought that DNA damage increases as antioxidant capacity decreases.

研究分野：産婦人科

キーワード：子宮内膜症 CD44v9

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

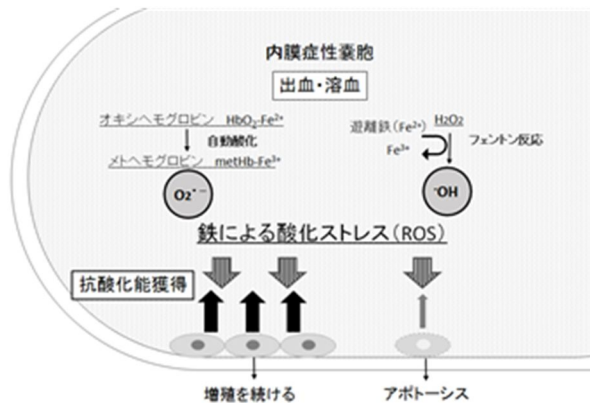
1. 研究開始当初の背景

近年、少子晩婚化に伴うライフスタイルの変化に伴い子宮内膜症の罹患率が増加し、2014年度の受療患者数は約22万人と報告されている。子宮内膜症は月経困難症・不妊・卵巣癌への悪性転化と関係しており、女性のQOLを最も低下させる疾患である。子宮内膜症の治療としては、手術療法、薬物療法が行われている。子宮内膜症はエストロゲンに依存して発生・増殖することから、薬物療法としては血中エストロゲンレベル低下を目的としてGnRHアゴニスト、低用量エストロゲン・プロゲステロン製剤、黄体ホルモン療法が主体となっている。しかし、子宮内膜症は妊娠可能年齢の女性に発症するため、挙児希望のある女性にはこれらの排卵抑制作用のある薬剤は投与できない。また手術療法による卵巣機能の低下も指摘されている。また治療を行っても再発率は高く、閉経するまで内膜症を根治させることは難しい。内膜症の病態や発生機序に関して様々な研究がなされているが、上記の問題点を解決する治療は開発されていない。

2. 研究の目的

我々は子宮内膜症に対して別の視点からの治療につながることを目的とし、子宮内膜症における酸化・還元反応に着目した。

子宮内膜症が卵巣に病巣を形成すると、卵巣に発生した異所性子宮内膜から出血が生じ、チョコレート色の嚢胞を形成する。このため一般的にチョコレート嚢胞と呼ばれているが、他の卵巣腫瘍とは異なり、腫瘍内容液には「鉄」が多く含まれている。これは嚢胞内で月経のたびに出血が起こり、溶血が起こるからである。よって内膜症性嚢胞は常に「鉄」から生じる強い酸化ストレスにさらされている。生体は常に多くの酸化ストレスに暴露した状態で生きているが、生体は酸化ストレスに対して様々な制御機構を働かせることで適応し、恒常性を維持している。そこで、我々は病変で起こる酸化・還元反応に着目した。チョコレート嚢胞の上皮が強い酸化ストレス化で増殖し続けるためには、何らかの方法で抗酸化能を獲得し、ストレスを回避していると考えられる。



今回は、抗酸化能を獲得する機序の一つとして、癌幹細胞マーカーとしても知られているCD44バリエーションアイソフォーム (CD44v) に注目した。

3. 研究の方法

1) 血清・腫瘍内容液を用いたROSマーカーの検討

当院での周術期にサンプリングされた子宮内膜症症例、子宮内膜症から発生したと考えられる明細胞癌 (EAOC) 症例の腫瘍内容液や保存血清を用いて、ELISA法で酸化マーカー (8ヒドロキシデオキシグアノシン: 8-OHdG)、抗酸化マーカー (ヘムオキシゲナーゼ 1: HO-1) を測定する。

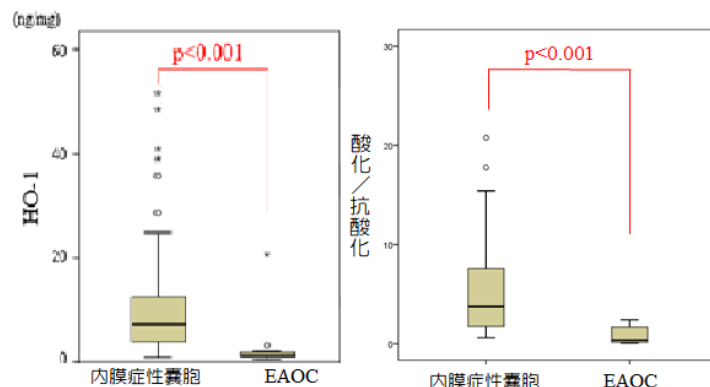
2) 子宮内膜症の組織標本を用いたCD44v9、ROSマーカーの血清診断および免疫組織学的検討

当院で摘出した子宮内膜症性嚢胞および正所子宮内膜組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、抗酸化マーカーとしてCD44v9とHO-1、酸化マーカーとして8OHdGの発現を免疫組織染色にて検討する。

4. 研究成果

1) 血清での8-OHdGとHO-1については内膜症性嚢胞、EAOCいずれにおいても有意差は得られなかった。

腫瘍内容液の酸化/抗酸化ストレスのバランスや、HO-1についてはいずれも子宮内膜症症例において優位に高かった。この結果から子宮内膜症においては酸化ストレスに晒されるとともに、抗酸化能も高い状態にあること、一方で明細胞癌においては腫瘍内の環境が変化

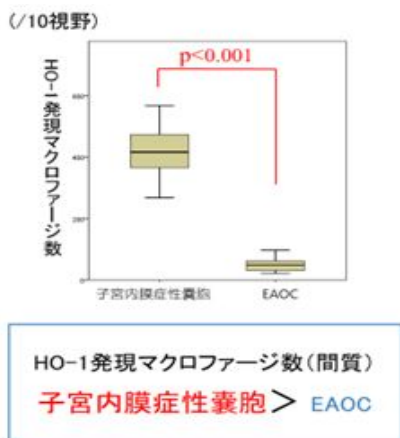


したためか、酸化ストレス、抗酸化能ともに低い状態にあると考えられた。

2) CD44v9 陽性率は子宮内膜症症例において優位に高く、8-OHdG 陽性率は明細胞癌合併症例において優位に高い結果が得られた。CD44v9 の発現と、8-OHdG の発現において負の相関も認められており、抗酸化能の低下が DNA 損傷を増幅させている可能性が示唆された。

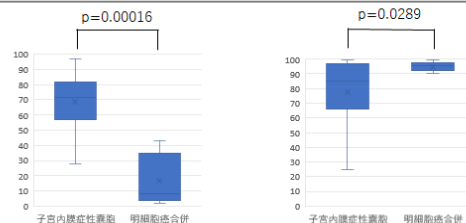
また、HO-1 の発現においても子宮内膜症症例で優位に高い結果が得られた。

以上の結果からも子宮内膜症性嚢胞においては CD44v9 や HO-1 の発現により抗酸化能が高い状態であるが、明細胞癌においては抗酸化能が低下している状態であった。

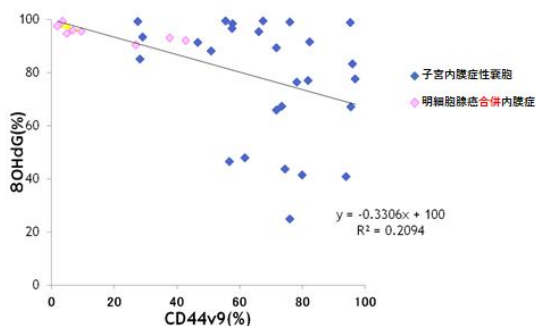


CD44v9, 8OHdG発現解析 (免疫組織化学的検討)

	子宮内膜症性嚢胞 (N=27)	明細胞癌合併 子宮内膜症 (N=8)	p値
CD44v9陽性率(%)	68.3±19.9	16.7±16.5	$p=0.00016$
8OHdG陽性率(%)	77.3±22.5	94.9±3.0	$p=0.0289$



CD44v9, 8OHdG発現の分布 (免疫組織化学的検討)



1) 2) の結果を踏まえると、何らかの要因により CD44v9 や HO-1 の発現低下を来すことで抗酸化能が低下し、DNA 損傷が増大したことから癌化を来たことなどが推察される。

今後 CD44v9・HO-1 の発現低下のメカニズム解明などにより癌化予防や治療薬開発などの可能性が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小川憲二、山田有紀、小林浩
2. 発表標題 卵巣明細胞癌の発生、進展におけるCD44v9の関与
3. 学会等名 第27回日本がん転移学会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 小川憲二、河原直紀、山田有紀、吉元千陽、川口龍二、佐道俊幸、小林浩
2. 発表標題 子宮内膜症より発生した卵巣明細胞腺癌におけるCD44v9の免疫組織学的検討
3. 学会等名 第40回日本エンドメトリオーシス学会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 竹田善紀、河原直紀、松原 翔、新納恵美子、山田有紀、吉元千陽、成瀬勝彦、馬淵誠士、川口龍二、島田啓司、須藤 保、小林 浩
2. 発表標題 子宮内膜症の癌化におけるCD44v9 と8-OHdG の役割
3. 学会等名 第41回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Takeda Y, Kawahara N, Matsubara S, Niuro E, Yamada Y, Yoshimoto C, Naruse K, Mabuchi S, Kawaguchi R, Kobayashi H
2. 発表標題 Immunohistochemical expression of CD44v9 and 8-OHdG in ovarian endometrioma and the benign endometriotic lesions adjacent to clear cell carcinoma.
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年～2021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	吉元 千陽 (YOSHIMOTO CHIHARU) (00526725)	奈良県立医科大学・医学部・助教 (24601)	
研究分担者	棚瀬 康仁 (TANASE YASUHITO) (20423915)	奈良県立医科大学・医学部・助教 (24601)	
研究分担者	小林 浩 (KOBAYASHI HIROSHI) (40178330)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	
研究分担者	竹田 善紀 (TAKEDA YOSHINORI) (50825239)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員 (24601)	

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
---------	---------