

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09257

研究課題名(和文)新規細胞死フェロトーシスをターゲットとした卵巣がん治療戦略

研究課題名(英文) Treatment strategy of ovarian cancer, targeting the new programmed cell death, "Ferroptosis".

研究代表者

森重 健一郎 (Morishige, Ken-ichirou)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90283788

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：基本的なフェロトーシス誘導剤であるエラスチンの作用機序は、シスチントランスポーターの機能を抑制して細胞内へのシスチン取り込みを抑制し、グルタチオンの減少、ひいては二価鉄からフェントン反応で産生される細胞内活性酸素量の増加を促し、結果として細胞死を誘導するメカニズムである。この作用はスルファサラジンでも同様であった。

一方、アルテスネートは、シスチントランスポーター機能には影響を与えず、フェリチン特異的なオートファジー(フェリチノファジー)を促進して、フェリチンと結合した鉄を遊離して細胞内二価鉄が増加し、フェントン反応により活性酸素の増加・細胞死を誘導することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣がんでは粘液性癌、(低異型)漿液性癌、明細胞癌などの一部にRas変異が認められており、これらは抗がん剤抵抗性である。これらの化学療法抵抗性腫瘍に対して有用な抗がん剤を見つけ出すためにはがんの原因となるドライバー変異の解析だけでなく、異なるプログラム細胞死を誘導する抗がん剤の開発が重要となる。その点においてRas変異卵巣がんにおけるフェロトーシスの解析と誘導薬の研究は抗がん剤抵抗性の卵巣がん治療薬の開発につながりうるものである。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of action of elastin, an inducer of ferroptosis, is to inhibit the function of the cystine transporter, thereby suppressing cystine uptake into the cell, leading to a decrease in intracellular glutathione and consequently an increase in the amount of intracellular reactive oxygen species produced by the Fenton reaction from divalent iron, resulting in lipid oxidation and cell death. This is the mechanism that induces lipid oxidation and cell death. This effect was also observed with sulfasalazine.

On the other hand, artesunate did not affect the cystine transporter activity, but promoted ferritin-specific autophagy (ferritinophagy), which released ferritin-bound iron, increased intracellular divalent iron, and increased the amount of intracellular ROS produced by the Fenton reaction.

研究分野：産科婦人科学

キーワード：卵巣癌 フェントン反応 フェロトーシス オートファジー フェリチン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アポトーシスは、活性化カスパーゼによって実行される細胞死として定義されている。一方、アポトーシス以外のプログラム細胞死の存在に注目が集まっている。非アポトーシス細胞死ががんなどの病理的な環境で重要な働きをしていることが相次いで報告されている。ネクロプトーシス、オートファジー細胞死、フェロトーシスなど様々のものがある。

フェロトーシスは Ras 変異を有するがん細胞死を誘導する化合物のスクリーニングとその解析をきっかけとして見出された細胞死の様式で、これらの化合物のうちエラスチンはシスチントランスポーターのサブユニットである xCT 分子を阻害し、細胞内グルタチオン濃度の低下を引き起こす。このとき細胞内に鉄を介したフェントン反応によりリン脂質の酸化が亢進し、細胞死が誘導される。この細胞死は鉄のキレーター (deferrioxamine: DFO) により抑制されることから、鉄依存性の脂質酸化依存的な新規細胞死としてフェロトーシスと名付けられた。

### 2. 研究の目的

フェロトーシスは、近年細胞死の分野でホットな領域である。RAS 変異を有する細胞特異的に、この細胞死が誘導されることが見いだされた。卵巣がんでは粘液性癌、(低異型)漿液性癌、明細胞癌などの一部に Ras 変異が認められており、卵巣がんにおけるフェロトーシス機構の解明を目的とする。この研究は、卵巣がんの有用な治療法の開発につながりうる。

### 3. 研究の方法

各種卵巣がん細胞についてRASに変異があるかどうか確認する。すでに明細胞癌細胞株の1つであるTOV21GについてKRasの変異を確認している。まず卵巣がん細胞株についてRas変異について調べる。一般に卵巣がんの中でも明細胞癌、粘液性癌、(低異型)漿液性癌ではRas変異を伴っているものが多いことが知られている。

まずエラスチン によってRas変異株とRas野生株について還元型グルタチオン(GSH)量、活性酸素(ROS)産生(H<sub>2</sub>DCFDA)、脂質酸化(C11-BODIPY蛍光プローブを用いてフローサイトメトリーで測定)を評価する。また細胞数を測定してRas変異株におけるエラスチンの増殖抑制効果を検証する。

の実験をエラスチン以外のRSL3、スルファサラジン、ソラフェニブ、アルテスネートなどでも検討する。

またエラスチンの効果に対して、フェロトーシスの阻害薬であるDFO、フェロスタチン-1、リプロスタチン-1の抑制作用をROS産生、増殖について検討する。

エラスチン、スルファサラジンの効果の特異性を検証するために、Ras変異株においてSLC7A11(xCT)をsiRNAで抑制して、と同様の評価を行う。

RSL3(GPx4をターゲット)の効果の特異性を検証するためにRas変異株においてGPx4をsiRNAで抑制して、と同様の評価を行う。

RAS変異細胞株、非変異株について

a. シスプラチンによる増殖抑制効果(WST-1 assay)を検討。

- b. 細胞内ROS量、GSH量も併せて評価する。増殖能の評価も行う。
- c. b.についてエラスチン、RSL3、スルファサラジン、ソラフェニブ、アルテスネート併用の影響を検討する。

卵巣がんモデルマウスを用いたフェロトシス誘導薬と抗がん剤の併用効果の検討  
SCID マウスを用いて Ras 変異細胞株を腹腔内に移植する。フェロトシス誘導薬として今回の実験に用いるのは、すでにヒトを対象として臨床的に使用されているスルファサラジン、ソラフェニブ、アルテスネートとする。

#### 4 . 研究成果

基本的なフェロトシス誘導剤であるエラスチンの作用機序は、シスチントランスポーターの機能を抑制して、細胞内へのシスチン取り込みを抑制して、細胞内のグルタチオンの減少、ひいては二価鉄からフェントン反応で産生される細胞内活性酸素量の増加を促し、結果として脂質酸化・細胞死を誘導するメカニズムである。この作用はスルファサラジンでも同様であった。

一方、アルテスネートは、二価鉄・活性酸素産生の増加を介して細胞死を誘導するのはエラスチンと同じだが、シスチントランスポーター活性には影響を与えなかった。

フェリチン特異的なオートファジー(フェリチノファジー)に着目して、アルテスネートがフェリチノファジーを促進してフェリチンと結合した鉄を遊離して細胞内二価鉄が増加して、フェントン反応により細胞内活性酸素量が増加することを見出した。

またこの効果は、Ras 変異の有無にかかわらず誘導されることを見出した。この成果については現在論文作成中である。

卵巣がんモデルマウスを用いたフェロトシス誘導薬の効果については、現在進行中であり、予定期間内に成果を出すところまで至っていない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Iihara H, Shimokawa M, Hayasaki Y, Fujita Y, Abe M, Takenaka M, Yamamoto S, Arai T, Sakurai M, Mori M, Nakamura K, Kado N, Murase S, Shimaoka R, Suzuki A, Morishige KI	4. 巻 156
2. 論文標題 Efficacy and safety of 5 mg olanzapine combined with aprepitant, granisetron and dexamethasone to prevent carboplatin-induced nausea and vomiting in patients with gynecologic cancer: A multi-institution phase II study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gynecol Oncol	6. 最初と最後の頁 629-635
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygyno.2020.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ando T, Kato H, Kawaguchi M, Furui T, Morishige K-I, Hyodo F, Matsuo M	4. 巻 45
2. 論文標題 MR findings for differentiating decidualized endometriomas from seromucinous borderline tumors of the ovary.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Abdominal Radiology	6. 最初と最後の頁 1783-1789
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00261-020-02412-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawaguchi Masaya, Kato Hiroki, Hatano Yuichiro, Tomita Hiroyuki, Hara Akira, Suzui Natsuko, Miyazaki Tatsuhiko, Furui Tatsuro, Morishige Ken-ichirou, Matsuo Masayuki	4. 巻 38
2. 論文標題 MR imaging findings of low-grade serous carcinoma of the ovary: comparison with serous borderline tumor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 782～789
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11604-020-00960-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 坊本 佳優、齋竹 健彰、村瀬 紗姫、上田 陽子、菊野 享子、森 美奈子、志賀 友美、竹中 基記、山本 志緒理、早崎 容、古井 辰郎、森重 健一郎	4. 巻 38
2. 論文標題 腹壁子宮内膜症から発生した明細胞癌の一例.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本婦人科腫瘍学会雑誌	6. 最初と最後の頁 275-282
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11604-020-00960-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hatano Y, Hatano K, Tamada M, Morishige K-I, Tomita H, Yanai H, Hara A	4. 巻 26(5)
2. 論文標題 A Comprehensive Review of Ovarian Serous Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Adv Anat Pathol	6. 最初と最後の頁 329-339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAP.0000000000000243	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iihara H, Shimokawa M, Abe M, Hayasaki Y, Fujita Y, Nagasawa Y, Sakurai M, Matsuoka R, Suzuki A, Morishige K-I	4. 巻 9
2. 論文標題 Study protocol for an open-label, single-arm, multicentre phase II trial to evaluate the efficacy and safety of combined triplet therapy and olanzapine for prevention of carboplatin-induced nausea and vomiting in gynaecological cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMJ Open 2019	6. 最初と最後の頁 e024357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjopen-2018-024357	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hatano Y, Tamada M, Asano N, Hayasaki Y, Tomita H, Morishige KI, Hara A	4. 巻 14(1)
2. 論文標題 High-grade serous ovarian carcinoma with mucinous differentiation: report of a rare and unique case suggesting transition from the "SET" feature of high-grade serous carcinoma to the "STEM" feature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagn Pathol	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-019-0781-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Koji, Shimada Muneaki, Saito Tsuyoshi, Takehara Kazuhiro, Tokunaga Hideki, Watanabe Yoh, Todo Yukiharu, Morishige Ken-ichirou, Mikami Mikio, Sugiyama Toru	4. 巻 29
2. 論文標題 Risk stratification models for para-aortic lymph node metastasis and recurrence in stage IB?IIB cervical cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 e11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2018.29.e11	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 -

1. 著者名 Kawaguchi M., Kato H., Hatano Y., Mizuno N., Furui T., Morishige K., Hara A., Goshima S., Matsuo M.	4. 巻 73
2. 論文標題 Inchworm sign of endometrial cancer on diffusion-weighted MRI: radiology?pathology correlation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Radiology	6. 最初と最後の頁 907.e9 ~ 907.e14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crad.2018.05.017	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 -

1. 著者名 Hatano Yuichiro, Fukuda Shinya, Makino Hiroshi, Tomita Hiroyuki, Morishige Ken-ichirou, Hara Akira	4. 巻 13
2. 論文標題 High-grade serous carcinoma with discordant p53 signature: report of a case with new insight regarding high-grade serous carcinogenesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-018-0702-3	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 -

1. 著者名 永澤秀子、平山祐、森重健一郎	4. 巻 50
2. 論文標題 がんのストレス耐性解除を基盤とする創薬戦略	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 56-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 小池大我、竹中基記、鈴木紀子、森美奈子、上田陽子、平山祐、永澤秀子、森重健一郎
2. 発表標題 卵巣癌におけるフェロトーシス誘導剤アルテスネートの効果の検討 .
3. 学会等名 日本酸化ストレス学会東海支部第8回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青島友維、早崎容、坊本佳優、村瀬紗姫、竹中基記、森重健一郎
2. 発表標題 プラチナ感受性再発卵巣癌におけるオラパリブ維持療法の有効性と安全性の検討.
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

1. 発表者名 坊本佳優、上村小雪、齋竹健彰、相京晋輔、大西主真、安見駿佑、村瀬紗姫、上田陽子、志賀友美、矢野竜一朗、古井 辰郎、森重健一郎
2. 発表標題 腹壁子宮内膜症から発生したと考えられる明細胞癌の一例.
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

1. 発表者名 栗原万友香、早崎容、溝口冬馬、村瀬紗姫、竹中基記、森重健一郎
2. 発表標題 進行卵巣癌における、Bevacizumab導入前後の臨床プロフィールの比較・検討
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原万友香、竹中基記、村瀬紗姫、早崎容、桑山太郎、神田智子、横山康宏、山田新尚、森重健一郎
2. 発表標題 進行卵巣癌の初回治療におけるBevacizumabの有効性についての検討
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坊本佳優、竹中基記、栗原万友香、村瀬紗姫、上田陽子、早崎容、古井辰郎、森重健一郎
2. 発表標題 進行卵巣癌におけるオラパリブ維持療法の評価について
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村瀬紗姫、坊本佳優、竹中基記、早崎容、森重健一郎
2. 発表標題 岐阜大学産婦人科におけるBRCA遺伝子変異症例について
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takenaka M, Suzuki N, Mori M, Koike T, Aoki H, Hirayama T, Nagasawa H, Morishige K-I
2. 発表標題 Ferroptosis induced by erastinin RAS mutant ovarian cancer cells
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takenaka M, Suzuki N, Mori M, Koike T, Aoki H, Hirayama T, Nagasawa H, Morishige K-I
2. 発表標題 RAS dependent programmed cell death termed "Ferroptosis" in ovarian cancer
3. 学会等名 the 17th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society(IGCS 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森美奈子、三木彩路、平山祐、鈴木紀子、上田陽子、森重健一郎、永澤秀子
2. 発表標題 フェロトーシス誘導に基づくがん治療と鉄動態解析に関する研究
3. 学会等名 日本酸化ストレス学会東海支部第6回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹中基記、鈴木紀子、青木仁美、森美奈子、小池大我、上田陽子、平山祐、永澤秀子、森重健一郎
2. 発表標題 RAS変異卵巢癌におけるフェロトーシス誘導薬エラスチンの有用性
3. 学会等名 第6回婦人科がんバイオマーカー研究会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takenaka M, Mori M, Ueda Y, Kikuno K, Morishige K
2. 発表標題 Ferroptosis induced by erastin in RAS mutant ovarian cancer cells
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹中基記、鈴木紀子、青木仁美、森美奈子、小池大我、上田陽子、平山祐、永澤秀子、森重健一郎
2. 発表標題 新規プログラム細胞死「フェロトーシス」の卵巢癌での位置づけ
3. 学会等名 第39回癌免疫外科研究会
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	竹中 基記  (Takenaka Motoki)  (20566484)	岐阜大学・医学部附属病院・助教   (13701)	
研究分担者	上田 陽子  (Ueda Yoko)  (20795075)	岐阜大学・医学部附属病院・医員   (13701)	
研究分担者	鈴木 紀子  (Suzuki Noriko)  (40642096)	岐阜大学・大学院医学系研究科・助教   (13701)	
研究分担者	森 美奈子  (Mori Minako)  (60585610)	岐阜大学・医学部附属病院・助教   (13701)	

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