

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18706

研究課題名（和文）子宮内膜症関連卵巣癌としての明細胞癌におけるIL-24の役割

研究課題名（英文）Role of IL-24 in clear cell carcinoma as endometriosis-related ovarian cancer.

研究代表者

岩佐 尚美（Iwasa, Naomi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：10627152

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：明細胞癌腫瘍内容液を不死化卵巣表層上皮細胞HOSE培養液中に添加し発現低下が認められた遺伝子としてDLX3を同定した。卵巣内膜症の嚢腫内容液をHOSEに添加しIL-24の発現が著明に上昇したが、HOSEにDLX3をノックダウンしたところ、IL24の発現が上昇した。したがってDLX3の発現低下がIL-24の発現を上昇させている可能性が考えられたが、正常の卵巣表層上皮においてはDLX3の発現は認められなかった。したがってDLX3が寄与している可能性は低いと考えられた。IL-24をHOSEに添加したところIL6、STAT3は変化を認めなかった。IL-24が発癌に関与している可能性は低いと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣内膜症の内容液および明細胞癌の内容液を卵巣上層上皮細胞においてIL24の発現を上昇させることを発見した。IL24の発がんへの影響は同定できず、内因性のSTING経路の活性化などをみている可能性が考えられた、

研究成果の概要（英文）：DLX3 was identified as a gene whose expression was downregulated when clear cell carcinoma tumor content fluid was added to immortalized ovarian surface epithelial cell HOSE culture medium. The expression of IL-24 was markedly upregulated when the cystic content fluid of ovarian endometriosis was added to HOSE, but when DLX3 was knocked down in HOSE, the expression of IL24 was upregulated. Thus, it was possible that reduced expression of DLX3 increased IL-24 expression, but no DLX3 expression was observed in normal ovarian surface epithelium. Therefore, it is unlikely that DLX3 contributes to the carcinogenesis. Addition of IL-24 to HOSE did not alter IL6 or STAT3, suggesting that IL-24 is unlikely to be involved in carcinogenesis.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：卵巣癌 子宮内膜症 卵巣明細胞癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

内膜症性嚢胞は子宮内膜症のうち嚢胞状形態を示すもので、古い凝血からなるチョコレート状の内容物を充満する。組織学的には、子宮内膜腺上皮類似の腺上皮に裏打ちされる嚢胞で、上皮下には出血やヘモジデリン沈着を伴う内膜間質に類似する間質細胞層が認められる。内膜症性嚢胞は卵巣癌のうち明細胞癌、類内膜癌の発生源として知られており、明細胞癌・類内膜癌は子宮内膜症関連卵巣癌 (endometriosis - associated ovarian cancer : EAOC) とよばれる。

類内膜癌は子宮内膜に発生する類内膜癌に類似する上皮性悪性腫瘍であり、卵巣癌の 10 - 15% を占める。CTNNB1、PTEN など内膜症でも認められる遺伝子変異を有するものが多い。明細胞癌は細胞質に豊富なグリコーゲンを含む細胞よりなり、本邦では卵巣癌の 20 - 25% 程度を占め、諸外国の約 5% に比較して多い。明細胞癌は ARID1A の変異が 40 - 57%、PIK3CA の変異が 33 - 50% に認められ、化学療法抵抗性であることが多く、進行例の予後はとくに不良である。IL-6-STAT3-HIF 経路が明細胞癌では特徴的に活性化していることがマイクロアレイによる発現解析から明らかとなっている (Anglesio MS et al. *Clin Cancer Res* 2011)。また 55 例の明細胞癌の解析により ARID1A を含む switch/sucrose non-fermentable (SWI/SNF) family 遺伝子の変異が 51% に認められ、phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) /Akt 経路の活性化が約 40%、receptor tyrosine kinase (RTK) /Ras 経路の活性化が約 20% で認められることが明らかとなった (Itamochi H et al. *Br J Cancer* 2017)。

このように EAOC の分子プロファイルは明らかとなってきたが、内膜症を背景に癌化する機序に関しては明らかではなかった。その機構を明らかにし、癌化予防のストラテジーを考案するため本研究を立案した。

## 2. 研究の目的

子宮内膜症性嚢胞から類内膜癌、明細胞癌といった EAOC を発がんする過程において、チョコレート様の内膜症性嚢胞の内容物が関与している可能性を考慮した。エクソソーム中の mRNA および長鎖非コード RNA に着目し、明細胞癌内容液から抽出したエクソソームを不死化卵巣表面上皮株 HOSE 培養液に添加し、添加前、添加 12 時間後、添加 48 時間後でそれぞれ HOSE を回収し、マイクロアレイ解析 (SurePrint G3 Human GE マイクロアレイ 8x60K、Agilent) を行った。添加 12 時間後では直接エクソソームから HOSE に取り込まれた RNA、添加 48 時間後ではその結果としておきた発現の変化が認められると考えた。その結果、12 時間後、48 時間後のいずれも上昇が認められた RNA として IL24 に着目した。IL24 の EAOC 発がんにおける関与を明らかにすることを目的として研究を開始した。

## 3. 研究の方法

以下の研究方法を用いて研究を行った。

- ・ 内膜症性嚢胞の内容液から抽出したエクソソームを HOSE 培養液に添加し、HOSE の IL24 の発現が変化するかを確認
- ・ IL24 の HOSE に対する増殖能、浸潤能への影響の解析
- ・ IL24 およびそのレセプターの卵巣癌における発現解析

## 4. 研究成果

内膜症性嚢胞の内容液から抽出したエクソソームを HOSE 培養液に添加したところ、明細胞

癌内容液中エクソソーム添加時と同様に HOSE において *IL24* の著明な発現上昇を認めた(図)。同様に内膜症性嚢胞の内用液を HOSE に添加したところリン酸化 STAT3 の核内における発現が有意に上昇した ( $p<0.0001$ )。IL24 を HOSE に添加しても STAT3 のリン酸化は明らかに認められなかった。IL24 を HOSE に添加し、*IL6* の発現に及ぼす影響を検討したところ、IL24 により *IL6* の発現は変化を認めなかった。また、卵巣癌において public database を用いて

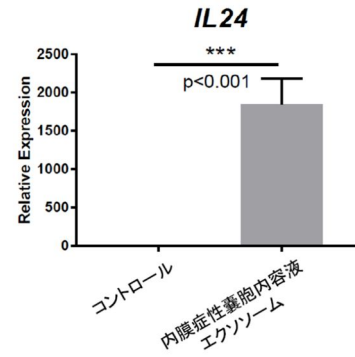


図. エクソソームを添加したHOSEにおける*IL24*の発現

*IL24* の発現を検索したところ *IL24* 高発現群の予後は良好であった ( $p=0.018$ )。IL24 のレセプターである IL20R1 と IL20R2 に関して卵巣癌における発現を解析したところ *IL20R1* の高発現は予後良好因子であり ( $p=0.015$ )、*IL20R2* の高発現は予後不良因子であった ( $p=0.0056$ )。IL24 は外因性に添加しても明らかに IL6-STAT3 経路への影響は認めなかった。

次に明細胞癌腫瘍内容液4検体をHOSE培養液中に添加し、添加前後のトランスクリプトームを比較したところ、添加48時間後に発現低下が認められた遺伝子は *DLX3*、*LINC00375*、*CHGB*、*MC4R*であった。卵巣内膜症の嚢腫内容液をHOSEに添加した場合 *IL24* の発現を著明に上昇させることを示したが、HOSEに *DLX3* をノックダウンしたところ、2種類の *DLX3* siRNAはいずれも *IL24* の発現を上昇させた。したがって *DLX3* の発現低下が *IL24* の発現を上昇させている可能性が考えられた。正常卵巣を用いて *DLX3* の発現を蛍光免疫染色で確認したところ、正常の卵巣表層上皮においては *DLX3* の発現は認められず、間質においては *DLX3* の発現が認められた。したがって卵巣表層上皮からの内膜症形成、発癌のメカニズムにおいては *DLX3* が寄与している可能性は低いと考えられた。IL24はこれまでの研究結果からは発癌に関与している可能性が得られていない。内膜症内容液添加により著明に *IL24* 発現上昇が認められるが、内因性のSTING経路など免疫応答の結果をみている可能性があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iwasa-Inoue Naomi, Nomura Hiroyuki, Kataoka Fumio, Chiyoda Tatsuyuki, Yoshihama Tomoko, Nanki Yoshiko, Sakai Kensuke, Kobayashi Yusuke, Yamagami Wataru, Morisada Tohru, Hirasawa Akira, Aoki Daisuke	4. 巻 27
2. 論文標題 Prospective feasibility study of neoadjuvant dose-dense paclitaxel plus carboplatin with bevacizumab therapy followed by interval debulking surgery for advanced ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 441 ~ 447
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygyno.2021.07.005	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 Kuroda Yuka, Chiyoda Tatsuyuki, Kawaida Miho, Nakamura Kohei, Aimoto Eriko, Yoshimura Takuma, Takahashi Mio, Saotome Keiko, Yoshihama Tomoko, Iwasa Naomi, Sakai Kensuke, Yamagami Wataru, Nishihara Hiroshi, Aoki Daisuke	4. 巻 162
2. 論文標題 ARID1A mutation/ARID1A loss is associated with a high immunogenic profile in clear cell ovarian cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 679 ~ 685
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jog.14713	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 Takahashi Mio, Sakai Kensuke, Iwasa Naomi, Wada Michiko, Hino Makiko, Kurahashi Takashi, Ueno Mari, Nakagawa Hiroyuki	4. 巻 47
2. 論文標題 Validation of the FIGO 2018 staging system of cervical cancer: Retrospective analysis of FIGO 2009 stage IB1 cervical cancer with tumor under 2 cm	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 1871 ~ 1877
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jjco/hyaa140	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 Nanki Yoshiko, Nomura Hiroyuki, Iwasa Naomi, Saotome Keiko, Dozen Ai, Yoshihama Tomoko, Hirano Takuro, Hashimoto Shiho, Chiyoda Tatsuyuki, Yamagami Wataru, Kataoka Fumio, Aoki Daisuke	4. 巻 51
2. 論文標題 A prospective cohort study on the safety and efficacy of bevacizumab combined with chemotherapy in Japanese patients with relapsed ovarian, fallopian tube or primary peritoneal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 54 ~ 59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa140	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 世良 亜紗子, 岩佐 尚美, 坂井 健良, 平田 桃, 藤麻 真理子, 白根 照見, 松田 亜季, 境 委美, 福武 麻里絵, 藤岡 陽子, 和田 美智子, 樋野 牧子, 服部 純尚, 倉橋 崇, 中川 博之	4. 巻 29
2. 論文標題 卵巣嚢腫茎捻転に対して女性ヘルスケアの立場から術式を考える 発症から時間の経過した症例に対して卵巣温存手術を行った1例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本女性医学学会雑誌	6. 最初と最後の頁 292-296
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 -

1. 著者名 落合 大輔, 岩佐 尚美, 平田 桃, 藤麻 真理子, 高橋 美央, 白根 照見, 松田 亜季, 世良 亜紗子, 坂井 健良, 福武 麻里絵, 境 委美, 藤岡 陽子, 和田 美智子, 樋野 牧子, 服部 純尚, 倉橋 崇, 上野 万里, 中川 博之	4. 巻 52
2. 論文標題 診断的腹腔鏡手術の有益性: 乳癌の卵巣転移が疑われた1例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 埼玉産科婦人科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 113-120
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 -

1. 著者名 岩佐尚美, 倉橋崇, 小埜理人, 藤岡陽子, 和田美智子, 樋野牧子, 服部純尚, 中川博之	4. 巻 50 (2)
2. 論文標題 子宮頸部明細胞癌と子宮体部類内膜癌の重複癌の一例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 埼玉産科婦人科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 126-130
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 -

1. 著者名 松田亜季、岩佐尚美、藤岡陽子、和田美智子、樋野牧子、服部純尚、倉橋 崇、中川博之	4. 巻 35-2
2. 論文標題 成熟嚢胞性奇形腫に起因する傍腫瘍性辺縁系脳炎と考えられた一例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日産婦内視鏡学会	6. 最初と最後の頁 257-261
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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岩佐 尚美、野村 弘行、千代田 達幸、吉浜 智子、南木 佳子、山上 亘、片岡 史夫、青木 大輔
2. 発表標題 進行卵巣癌に対する術前化学療法としてのdose-dense TC+bevacizumab療法の有効性に関する検討
3. 学会等名 第62回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩佐 尚美、野村 弘行、片岡 史夫、千代田 達幸、山上 亘、田中 守、青木 大輔
2. 発表標題 進行卵巣癌に対する術前化学療法としてのdose-dense TC + Bevacizumab療法の忍容性に関する検討
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 落合大輔、岩佐尚美、竹内 啓、平田 桃、藤麻真理子、白根照見、松田亜季、世良亜沙子、坂井健良、福武麻里絵、境 委美、藤岡陽子、和田美智子、樋野牧子、服部純尚、倉橋 崇、中川 博之
2. 発表標題 乳癌の卵巣転移が疑われたが審査腹腔鏡で卵巣癌の診断に至った一例
3. 学会等名 第60回日本産科婦人科内視鏡学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩佐 尚美, 境 委美, 北澤 晶子, 高橋 美央, 松田 亜季, 坂井 健良, 福武 麻里絵, 藤岡 陽子, 和田 美智子, 樋野 牧子, 服部 純尚, 倉橋 崇, 中川 博之
2. 発表標題 腹腔鏡下子宮全摘術後の腔断端離開に対して腹腔鏡下に修復を行った一例
3. 学会等名 日本産科婦人科内視鏡学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩佐 尚美, 平尾 薫丸, 田中 雄也, 松田 亜季, 坂井 健良, 境 委美, 福武 麻里絵, 藤岡 陽子, 和田 美智子, 樋野 牧子, 服部 純尚, 倉橋 崇, 中川 博之
2. 発表標題 卵巣明細胞癌治療後に家族歴を契機として遺伝性乳癌卵巣癌症候群と診断された一例
3. 学会等名 日本婦人科腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田 亜季, 岩佐 尚美, 田中 雄也, 境 委美, 福武 麻里絵, 藤岡 陽子, 和田 美智子, 樋野 牧子, 服部 純尚, 倉橋 崇, 中川 博之
2. 発表標題 高齢者に対する腹腔鏡下手術の有用性の検討
3. 学会等名 日本産科婦人科学会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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