

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18169

研究課題名（和文）リプログラミング動物卵巣を用いた卵巣胎児性癌発生モデルの開発、発病トリガーの解明

研究課題名（英文）Inappropriate Reprogramming Induce Carcinogenesis of Ovarian Embryonal Carcinoma

研究代表者

葉山 智工（Hayama, Tomonari）

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・講師

研究者番号：70819903

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：卵巣胚性癌（EC）は形態学的未熟生殖細胞からなる悪性腫瘍である。卵巣ECは卵子から生じるとされているが、動物モデルもなく発癌機序は未解明だった。そこで我々は、iPS細胞技術を応用し「リプログラミングが誘導できる」実験動物卵巣で、卵巣全体をリプログラミングし、発癌の形態学的・分子生物学的解析を行った。卵巣内ではリプログラミングを受けた、減数分裂前の卵子が単純性嚢胞を形成し、その中で癌発生が生じ、ECに至るのが観察された。またその際、少数のがん遺伝子の発現変化がECの増殖誘導と関係していた。ヒトEC細胞株でも同様の変化が検出された。我々のモデルはヒト卵巣ECの研究の強力なツールとなると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣胚性癌（EC）はAYA世代に好発する卵巣悪性腫瘍であり、大部分の症例は進行癌で発見され、生命は助かるが妊孕性は失われることが多い。ECの発癌の原因はわかっておらず、早期発見法も確立されていない。我々の開発した発癌動物モデルは、卵巣からECの発癌を誘導する動物モデルを世界で初めて提供した。さらにこのモデルで、卵巣ECの発がんの形態学・分子生物学的機序を解明した。このモデルはECの早期発見方法開発や、化学療法開発などの研究で強力なツールとなることも見込まれる。また本研究は2023年5月に行われた第75回日本産婦人科学会学術総会の婦人科腫瘍部門でJSOG Congress Awardを受賞した。

研究成果の概要（英文）：Ovarian embryonic carcinoma (EC) is tumor consisting of phenotypically immature germ cells. The origin of EC was hypothesized as oocytes in ovary. However, the origin and mechanisms of disease onset is still unclear because of no animal model of EC carcinogenesis. As novel EC animal model, we used ovaries of "reprogrammable animal" carrying inducible reprogramming genes. We induced reprogramming of ovaries in vivo, and clarified the origin and molecular mechanism of disease onset. The pre-meiosis oocytes under reprogramming, initially, simple cysts(SC) are formed, among which EC cell mass is formed. Few gene expression changes during reprogramming induce EC cells proliferation, accompanied by differentiated tissues. Those changes are similarly detected in human EC cell line. Our model provides an inducible animal model for carcinogenesis of ovarian EC from ovary. This model will be powerful research tool for mechanism of carcinogenesis, chemical treatment, and early cancer detection.

研究分野：産婦人科学

キーワード：卵巣胚細胞性腫瘍 発癌 リプログラミング モデル動物

1. 研究開始当初の背景

胎児性癌 (EC) は極めて未熟で胚細胞に似た性質を持つ細胞によって構成される。好発部位は卵巣、精巣と報告されており、生殖腺発生以外の症例は稀である。罹患平均年齢は 15 歳で、成人にはあまり発生しないことが分かっている。胎児性癌は卵巣内で胎児臓器組織の発生が見られるという非常にユニークな組織形態を持つ。そのためこの癌の起源は形態病理学的分類では卵巣内卵子が単為発生などで多能性を獲得して胚発生することにより発生するという考えが定説となっている。1959 年、Telium らにより胚細胞性腫瘍の分類が発表された時に、すでにこの説は提唱され、1975 年、Linder らにより約半数の良性奇形腫の遺伝学的起源は単為発生した卵子由来であるだろうと腫瘍化した組織の遺伝解析より推察されている。しかしヒトでも実験動物でも生殖細胞が腫瘍化する瞬間を捉えるのは困難なため、どの因子が卵子に多能性獲得の契機を与え、卵巣胎児性癌を発生させるのか、そのトリガーも機序も解明されていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は「リプログラマブル動物の完全に分化した組織を In Vivo でリプログラムすることにより胎児性癌の発生モデルが樹立できるのか」を調べて、胎児性癌の発生の起源を知ることであった。これは臨床的に重要であるとともに、多能性と癌化の関係を明らかにできるので生物学的にも重要な意義を持つものであると考えた。

3. 研究の方法

生殖細胞 (卵巣内卵細胞) 由来とされるこの腫瘍の発生原因を明らかにするため、「発病トリガーは適切ではない卵巣組織内でのリプログラミングによる多能性獲得」であるという仮説に基づき具体的な実験を行った。

近年報告されたリプログラミングを体内で誘導できる動物モデルに対して、卵巣内卵子に多能性 (未分化状態) を誘導しこの癌が発生するかどうか調べた。

発生する時の卵巣組織内での遺伝子発現の変化を明らかにした。

胎児由来卵巣癌のヒト手術検体から樹立された培養細胞でリプログラミング関連遺伝子が上昇しているかを調べた。

4. 研究成果

我々は、iPS 細胞技術を応用し「リプログラミングが誘導できる」実験動物卵巣で、卵巣全体をリプログラミングし、発癌の形態学的・分子生物学的解析を行った。卵巣内ではリプログラミングを受けた、減数分裂前の卵子が単純性嚢胞を形成し、その中で癌発生が生じ、EC に至るのが観察された。またその際、少数のがん遺伝子の発現変化が EC の増殖誘導と関係していた。ヒト EC 細胞株でも同様の変化が検出された。

卵巣胚性癌 (EC) は AYA 世代に好発する卵巣悪性腫瘍であり、大部分の症例は進行癌で発見され、生命は助かるが妊孕性は失われることが多い。EC の発癌の原因はわかっておらず、早期発見法も確立されていない。我々の開発した発癌動物モデルは、卵巣から EC の発癌を誘導する動物モデルを世界で初めて提供した。さらにこのモデルで、卵巣 EC の発がんの形態学・分子生物学的機序を解明した。本研究は 2023 年 5 月に行われた第 75 回日本産婦人科学会学術総会の婦人科腫瘍部門で JSOG Congress Award を受賞した。

我々の開発したモデルは EC の癌化の詳細な機序、早期発見方法開発、化学療法開発などで強力な研究ツールとなることを見込まれる。

英文 Overview of this research

Ovarian embryonic carcinoma (EC) is tumor consisting of phenotypically immature germ cells. The origin of EC was hypothesized as oocytes in ovary. However, the origin and mechanisms of disease onset is still unclear because of no animal model of EC carcinogenesis. As novel EC animal model, we used ovaries of "reprogrammable animal" carrying inducible reprogramming genes. We induced reprogramming of ovaries in vivo, and clarified the origin and molecular mechanism of disease onset. The pre-meiosis oocytes under reprogramming, initially, simple cysts (SC) are formed, among which EC cell mass is formed. Few gene expression changes during reprogramming induce EC cells

proliferation, accompanied by differentiated tissues. Those changes are similarly detected in human EC cell line. Our model provides an inducible animal model for carcinogenesis of ovarian EC from ovary. This model will be powerful research tool for mechanism of carcinogenesis, chemical treatment, and early cancer detection.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hamada Haru, Hayama Tomonari, Ijuin Akifumi, Miyakoshi Ai, Kasai Michi, Tochiara Shiori, Saito Marina, Nishi Mayuko, Ueno Hiroe, Yamamoto Mizuki, Komeya Mitsuru, Yumura Yasushi, Sakakibara Hideya, Miyagi Etsuko, Murase Mariko	4. 巻 37
2. 論文標題 Fertility preservation immediately after therapeutic abortion results in multiple normal follicular growth with the absence of mature oocytes due to early luteinization: a case report and literature review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gynecological Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1050 ~ 1053
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09513590.2021.1950135	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 Arai Yuuka, Ueno Hiroe, Yamamoto Mizuki, Izumi Haruna, Takeshima Kazumi, Hayama Tomonari, Sakakibara Hideya, Yumura Yasushi, Miyagi Etsuko, Murase Mariko	4. 巻 24
2. 論文標題 Outcomes of the study of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and sperm motility with microdissection testicular sperm extraction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Andrology	6. 最初と最後の頁 221 ~ 221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/aja202152	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 Hayama T, Ma H, Van Dyken C, Darby H, Koski A, Lee Y, Gutierrez NM, Yamada S, Li Y, Andrews M, Ahmed R, Liang D, Gonmanee T, Kang E, Nasser M, Kempton B, Brigande J, McGill TJ, Terzic A, Amato P, Mitalipov S.	4. 巻 102
2. 論文標題 Deleterious mtDNA Mutations are Common in Mature Oocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol Reprod.	6. 最初と最後の頁 607-619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/ioz202.	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tomonari Hayama, Akifumi Ijuin, Hiroe Ueno, Haru Hamada, Ai Miyakoshi, Mayuko Nishi, Marina Saito, Haruka Hamanoue, Mitsuru Komeya, Tepei Takeshima, Shinnosuke Kuroda, Hideya Sakakibara, Yasushi Yumura, Etsuko Miyagi & Mariko Murase
2. 発表標題 Purifying selection for aneuploidy cells in mosaicism embryo at post-implantation stage.
3. 学会等名 ESHRE 2021 European Society of Human Reproduction and Embryology 37th virtual annual meewting (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Akifumi Ijuin, Tomonari Hayama, Mizuki Yamamoto, Hiroe Ueno, Haru Hamada, Ai Miyakoshi, Mayuko Nishi, Marina Saito, Tochiyama Siori, Mitsuru Komeya, Tepei Takeshima, Shinnosuke Kuroda, Hideya Sakakibara, Yasushi Yumura, Etsuko Miyagi & Mariko Murase
2. 発表標題 High Mitochondrial DNA replication in embryos derived from Myotonic dystrophy 1 female.
3. 学会等名 ASRM2021 77th American society for reproductive medicine, virtual congress, Baltimore (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Tomonari Hayama, Hideya Sakakibara, Etsuko Miyagi
2. 発表標題 Inappropriate Reprogramming Factors Induce Sequential Ovarian Tumor Development in Rodent Ovary; Serous Cystadenoma- Benign Teratoma-Embryonal Carcinoma Sequence
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 Tomonari Hayama, Hideya Sakakibara, Etsuko Miyagi, Tomoyuki Yamaguchi
2. 発表標題 Inappropriate Reprogramming Induce Carcinogenesis of Ovarian Embryonal Carcinoma in Rodent Ovary
3. 学会等名 第75回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2023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
---------	---------