

## Copper content in ascitic fluid is associated with angiogenesis and progression in ovarian cancer

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2023-08-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大沼, 利通 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10098/0002000004">http://hdl.handle.net/10098/0002000004</a>

## 学位論文の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏名	おおぬま としみち 大沼 利通
学位論文題目	Copper content in ascitic fluid is associated with angiogenesis and progression in ovarian cancer (腹水中の銅は卵巣癌の血管新生と進展に関連している)		
<p>目的：卵巣癌は婦人科悪性腫瘍の中で最も予後不良である。卵巣癌ⅢあるいはⅣ期では5年生存率は27%にすぎない。したがって、卵巣癌の予後を改善するための新たな治療戦略が必要とされている。腹水は多種の因子を含有し、悪性腫瘍の予後不良と関連している。卵巣癌は腹水が貯留する代表的な婦人科悪性腫瘍である。微量元素は恒常性維持に重要な役割を果たし、その量は厳密に制御されている。微量元素の欠乏は、疾患の発症や悪化に関連している。また、微量元素は、その濃度が生理的レベルを超えると有害となる。しかし、卵巣癌における腹水微量元素変動の生物学的意義は不明である。そこで、本研究では卵巣癌患者の腹水中微量元素を分析した。さらに、培養細胞を用いて、卵巣癌腹水中に多く含有される銅（Cu）による、遺伝子発現変化と血管新生への影響を解析した。</p>			
<p>方法：誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS；Inductively coupled plasma mass spectrometry）を用いて、良性卵巣腫瘍(n=22)および境界型／悪性腫瘍(n=5)の患者の腹水中の微量元素を測定し、卵巣癌に関連した微量元素のスクリーニングを行った。ICP-MSの結果から、良性卵巣腫瘍患者(n=88)、境界型腫瘍患者(n=11)、悪性卵巣腫瘍患者(n=25)について、原子吸光分析（AAS；Atomic absorption spectroscopy）を用いて腹水Cu濃度を測定した。さらにCuにより誘導される遺伝子発現の変化を検証するため、細胞株に対するマイクロアレイ解析を行った。Cuの血管新生への影響を検証するため、血管内皮細胞増殖因子（VEGF；Vascular endothelial growth factor）mRNA発現をリアルタイムPCRで測定し、さらに細胞株上清または卵巣癌腹水中のVEGF濃度を、ELISA法を用いて測定した。統計学的解析ではp&lt;0.05を有意差ありと設定した。</p>			
<p>結果：ICP-MSにより、悪性/境界型卵巣腫瘍患者の腹水中Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Mo濃度が良性卵巣腫瘍患者と比較して有意に上昇することが示唆された。血清Cuは卵巣癌において高値となることが報告されている。そこで、腹水Cu濃度について、さらに症例を蓄積し検討を行った。その結果、腹水Cu濃度は良性卵巣腫瘍596.9ppb、境界悪性卵巣腫瘍720.0ppb、卵巣癌878.1ppbと卵巣癌で有意に上昇していた。さらに年齢、肥満度、アルコール、喫煙、サプリメントの使用を調整した後でも、卵巣癌は腹水Cu濃度と独立して関連していた。卵巣癌細胞と中皮細胞は腹水産生に関係するため、卵巣癌細胞としてOVCAR3とA2780細胞、中皮細胞としてMet-5A細胞を使用し、細胞株のマイクロアレイ解析を行った。培養液へのCuの添加により発現が増加した遺伝子群（A2780細胞634遺伝子、OVCAR3細胞1110遺伝子、Met-5A細胞580遺伝子）をPANTHER functional annotation web tool (<a href="http://pantherdb.org/">http://pantherdb.org/</a>)を用いて解析し、発現上昇遺伝子群と関連するPathwayとBiological Processを同定した。三つの細胞株に共通するPathwayとして</p>			

Angiogenesis (P00005)、p53 pathway (P00059)、oxidative stress response (P00046) が同定された。さらに細胞株において、上位 30 の enriched GO-Slim Biological Processes を抽出した。血管新生に関連する Biological process がすべての細胞株に含まれていた(Met-5A; positive regulation of angiogenesis GO:0045766, OVCAR3, and A2780; and regulation of angiogenesis GO:0045765)。そこで培養細胞において VEGF 発現の解析を行った。培養液中の Cu 濃度の増加は、全ての細胞株において VEGF mRNA の発現および VEGF 分泌を有意に促進することが示された。この結果から、卵巣癌腹水中の VEGF 濃度を測定した。卵巣悪性腫瘍患者の腹水 VEGF 濃度および臨床進行期は、腹水 Cu 濃度と相関があった。

考察：血清中の銅濃度は進行期との関連はないと報告されているが、本研究では腹水中の銅濃度は卵巣癌の進行期と関連があった。この結果から腹水 Cu は卵巣癌の進展に密接に関連していることが示唆された。Cu により誘導される OVCAR3 細胞、A2780 細胞、Met-5A 細胞の発現変動遺伝子より、共通して血管新生に関連した Pathway と Biological process が同定された。VEGF は卵巣癌の血管新生、進展に重要な役割を果たしている。本研究では、腹水 Cu が VEGF の増加と関連していることから、腹水 Cu が卵巣癌の血管新生や進展の促進因子であることが示唆された。Cu キレート剤は、腹水 Cu 濃度を低下させることで VEGF 発現を抑制し、卵巣癌への新たな治療薬候補となる可能性がある。

結論：卵巣癌では腹水 Cu 濃度が上昇し、これは腹水 VEGF 濃度と進行期と相関していた。Cu は卵巣癌細胞および中皮細胞に血管新生を促進した。本研究により、腹水 Cu は卵巣癌の血管新生と進展に密接に関連していることが示唆された。腹水 Cu は、卵巣癌への新たな治療ターゲットとなる可能性がある。

- 備考
- 1 ※印の欄は、記入しないこと。
  - 2 学位論文の要旨は、和文により研究の目的、方法、結果、考察、結論等の順に記載し、2,000 字程度にまとめタイプ等で印字すること。
  - 3 図表は、挿入しないこと。