

**P1-145** 卵巣癌におけるホメオボックス遺伝子 HOX の発現異常とアンチセンス導入による浸潤抑制効果

旭川医大

山下 剛, 石谷敬之, 片山英人, 長坂 武, 荻野元子, 河井紀一郎, 渡辺まり子, 佐久川直子, 石川睦男

【目的】ホメオボックス遺伝子 HOX は個体発生時に機能する遺伝子で、細胞固有の位置情報伝達を担う転写因子としての機能をもっている。近年種々の悪性腫瘍で HOX 異常発現が報告され、その異常発現が細胞群の位置情報の乱れを誘発し、血管新生制御や癌浸潤および転移に深く関わっていることが示唆されている。今回我々は卵巣癌において HOX 過剰発現の有無を検討し、アンチセンスにより癌浸潤能が抑制できるかどうかを検討した。【方法】同意の得られた卵巣手術検体および5つの卵巣癌細胞株を用い、リアルタイム RT-PCR 法にて癌細胞での全 39 個の HOX 遺伝子発現プロファイルを作成した。過剰発現が認められた遺伝子のうち 2 遺伝子についてアンチセンスプラスミドベクターを作成し、これをエレクトロポレーション法にて卵巣癌細胞株 SKOV3 に導入した。G418 にて選択後ベクターおよび導入遺伝子の一部をプライマーとした PCR 法にて細胞内への導入を確認し、トランスウェルチャンバーを用いたマトリゲルアッセイを行った。SKOV3 のみ、ベクターのみ (mock cell) 導入を対照としてアンチセンスベクター導入株の浸潤率を検討した。【成績】全 HOX 遺伝子中 16 個に過剰発現が認められ、異常は 4 つのクラスター中クラスター A, B に 14 個と集中していた。癌組織においても同様の過剰発現が認められた。クラスター B のうち正常組織で発現の認めなかった HOXB7, HOXB13 についてアンチセンスを導入し浸潤能を検討したところ、HOXB7 では 85%, HOXB13 では 50% の浸潤能の低下が認められた。【結論】卵巣癌では HOX 遺伝子異常はクラスター A, B に集中し、また HOXB7, B13 過剰発現は卵巣癌細胞株の浸潤能に重要な役割を果たしていることが示唆された。

**P1-146** 卵巣癌におけるタモキシフェンの抗腫瘍効果に関する検討。

岩手医大

小見英夫, 利部正裕, 庄子忠宏, 三浦史晴, 松田琢磨, 吉崎 陽, 井筒俊彦, 杉山 徹

【目的】卵巣癌では高率にホルモン受容体を有するが、ホルモン剤に対する効果は明確ではない。卵巣癌に対するホルモン剤の効果は receptor との関連で検討されてきたが receptor と関連しない効果についても新しい知見が示されており、hormone receptor を有しない DMBA 誘発ラット卵巣癌を用いて抗エストロゲン剤であるクエン酸タモキシフェン (TAM) における receptor を介さない in vivo での抗腫瘍効果を検討した。【方法】Wistar 系雌ラットに発生させた原発卵巣腺癌を摘出し、1~2mm に細切後、生後 1~2 週目の同系幼若雌ラットの背部皮下に移植した。同操作を繰り返し、安定した腫瘍発育を示す背部皮下移植担癌ラットを用いた。担癌ラットを TAM 投与群 2.0mg/kg, 0.5mg/kg と control 群に分け、移植腫瘍体積が約 100 mm<sup>3</sup> に達した時点よりラット背部皮下に投薬を開始した。2 週間後腫瘍を摘出し、1) 腫瘍増殖率、2) LSC による核 DNA 量分析、3) TUNEL 法にて細胞周期に占める apoptosis 細胞の比率を比較検討した。【成績】腫瘍増殖率は、control 群、TAM 投与群による有意な変化は認めなかった。核 DNA 量は G0+G1 期細胞、G2+M 期細胞、S 期細胞は control 群と比較して有意な変化は見られなかったが、TAM2.0mg/kg 投与群では G0G1 期細胞が増加、S 期細胞が減少している傾向を認めた。細胞周期に占める apoptosis 細胞の比率は、control 群の 2.1±0.7% に比較し、TAM2.0mg/kg 投与群では 9.0±1.5% と有意に増加していた (P<0.05)。【結論】TAM は DMBA 誘発ラット卵巣癌に対して、細胞周期 G0G1 期から S 期に影響を及ぼし、かつ apoptosis を誘導することが示された。

**P1-147** 上皮性卵巣癌細胞株における ZD1839 (Iressa) の細胞増殖抑制効果の検討防衛医大<sup>1</sup>, 東京・自衛隊中央病院<sup>2</sup>佐々木直樹<sup>1</sup>, 工藤一弥<sup>1</sup>, 加藤雅史<sup>1</sup>, 岡本三四郎<sup>1</sup>, 斉藤恵子<sup>2</sup>, 藤井和之<sup>1</sup>, 高野政志<sup>1</sup>, 喜多恒和<sup>1</sup>, 菊池義公<sup>1</sup>

【目的】我々のこれまでの検討では上皮性卵巣癌における EGFR の高発現頻度は 36% であり、上皮性卵巣癌においても EGFR が高頻度に過剰発現していることを確認している。今回、上皮性卵巣癌細胞株における EGFR のチロシンキナーゼインヒビターである ZD1839 (Iressa) の有効性を検討した。【方法】上皮性卵巣癌細胞株 KF28 及びその Taxol 耐性株である KF28Tx と、KF28 の CDDP 耐性株である KFr13 及びその Taxol 耐性株である KFr13Tx を用いて、MTT assay により Iressa に対する各細胞株の IC50 を求めた。次に既存の抗癌剤との併用効果を検討するため各細胞株に Taxol 又は CDDP と Iressa を同時添加し、併用に伴う細胞増殖抑制能の変化について検討した。各細胞株における EGFR の発現は western blotting にて評価した。【成績】KF28, KF28Tx の Iressa に対する IC50 はそれぞれ 8.7μM, 4.6μM であり、濃度依存性に細胞増殖を抑制した。KFr13, KFr13Tx においても Iressa は細胞増殖を抑制したがより高濃度の投与を必要とした。EGFR は各細胞株において種々の程度での発現を認めたが、増殖抑制効果は EGFR 発現量と相関しなかった。Iressa と Taxol, CDDP の併用では、全ての細胞株において低濃度から相加あるいは相乗的な増殖抑制効果が認められた。【結論】今回検討した全ての細胞株において Iressa による細胞増殖抑制効果を認めた。特に Taxol 耐性株である KF28Tx においても Iressa が奏効したことにより、Iressa を既存の抗癌剤と併用することにより患者の予後が改善される可能性があると思われる。