

P2-19-12 GSK-3 β の上皮性卵巣癌における発現様式の特徴と卵巣明細胞癌の増殖に与える影響についての検討

大阪市立大

松本佳也, 月岡美穂, 中野雄介, 森下真成, 笠井真理, 梶谷耕二, 福田武史, 吉田裕之, 安井智代, 角 俊幸, 本田謙一, 石河 修

【目的】卵巣明細胞腺癌は化学療法抵抗性で胞体内へのグリコーゲン貯留が特徴である。今回我々はグリコーゲンシンターゼ (GS) の調節にかかわるグリコーゲンシンターゼキナーゼ (GSK) の発現に着目し、上皮性卵巣癌の GSK-3 β の発現と臨床背景との関わりについて検討した。また GSK3 β inhibitor である LiCl の卵巣明細胞癌増殖に対する影響について検討するため cell line を用いて in vitro で検討を行った【方法】当科で経験した上皮性卵巣癌症例 154 例について、インフォームドコンセントを得た後、原発腫瘍に対し免疫組織化学染色を行い GSK-3 β の発現を評価した。ヒト卵巣癌細胞株 (OVISE OVTOKO) を 96 穴 plate に播種し 24 時間培養後、LiCl を 0mM, 5mM, 25mM, 50mM の濃度になるように添加した。添加後 0h, 24h, 48 h 経過後の生細胞数を WST-1 cell counting kit を用いて測定した。各 5well の平均吸光度を算出し比較検討した。【成績】GSK 3 β は明細胞腺癌で最も強発現例が多かったが、他の組織型にも多くの発現例が見られた。また進行期との相関は得られなかった。GSK3 β の発現は共に GS の発現との強い相関が見られた。また in vitro において LiCl により卵巣明細胞癌株は増殖抑制された。【結論】GSK3 β の発現は GS の発現と相関が見られ、GS の活性を調節している可能性が示唆された。GSK3 β inhibitor である LiCl により卵巣明細胞癌株は増殖抑制された。GSK3 β inhibitor による抗腫瘍効果にはさらなる検討を重ねる価値があると考えられた。

P2-19-13 マウス卵巣における上皮細胞接着分子 (EpCAM) 陽性細胞を標的とした上皮性卵巣癌マウスモデルの作成

熊本大

本原剛志, 田代浩徳, 高石清美, 宮原 陽, 坂口 勲, 片瀬秀隆

【目的】近年、様々な腫瘍組織において、自己複製能を有する癌幹細胞とそこから分化する癌細胞からなる階層性の存在が明らかにされ、その起源は正常組織内の幹細胞あるいは前駆細胞であるという見解が示されている。上皮細胞接着分子 (EpCAM) は細胞接着に関与する I 型膜タンパクであり、胚性幹細胞や他の正常組織における体性幹細胞との関連性が指摘されている。また、様々な固形癌における癌幹細胞マーカーとしての報告があり、上皮性卵巣癌においても予後不良因子のひとつとして重要である。本研究では、マウス卵巣に存在する EpCAM 陽性細胞に対して、組織幹細胞としての性質を解析するとともに、上皮性卵巣癌の発癌機構の解明を目的とし、遺伝子操作による発癌誘導を試みた。【方法】フローサイトメトリーを用いて卵巣の EpCAM 陽性細胞を分取し、in vitro での培養系にて sphere 形成能ならびに分化能を評価した。さらに、癌抑制遺伝子として知られる p16INK4a/ARF ノックアウトマウスの卵巣から分取した EpCAM 陽性細胞に対し、レトロウイルスベクターを用いて c-Myc 遺伝子の導入を行なった後、正常免疫能のマウス卵巣に同所移植した。【成績】卵巣における EpCAM 陽性細胞は sphere 形成能を有し、幹細胞様の性質が示唆された。また、発癌誘導実験においては、上記方法により形質転換した細胞を卵巣に移植することで、ヒト上皮性卵巣癌でみられる類内膜腺癌に組織的に酷似した腫瘍の形成が認められた。【結論】今回われわれが確立した上皮性卵巣癌マウスモデルは、癌化の標的細胞および発癌に関わる分子イベントの解析を可能にし、正常幹細胞および卵巣癌幹細胞の包括的な理解のための実験モデルとしても有用である。

P2-19-14 Carbonyl reductase が強発現した卵巣悪性腫瘍は自然退縮する

弘前大

王 慧, 横山良仁, 水沼英樹

【目的】Peroxisome proliferator-activated receptor α ligand であるクロフィブリン酸は、Carbonyl reductase (CR) を腫瘍内で誘導することで卵巣悪性腫瘍の増殖を抑制する。本研究では CR を強発現させたマウス卵巣癌細胞を作製し腫瘍増殖の変化を調べた。【方法】施設内の動物実験委員会の承認と組換え DNA 実験管理規程の下、sense CRcDNA を導入したマウス卵巣癌細胞 T-Ag-MOSE (CR 導入群) と無処置 T-Ag-MOSE (コントロール群) を 8 週齢のヌードマウス背側に 0.5×10^6 /ml の濃度で移植した。腫瘍長径が 2mm になった時点から、両群の腫瘍体積を 5 週間測定した。CR 導入群とコントロール群の腫瘍の病理学的、生化学的な相違を検討した。【成績】コントロール群は 5 週間の間腫瘍体積は増加した。一方 CR 導入群は腫瘍体積測定開始後 2 週目までは腫瘍体積は増加したが、それ以降 5 週目まで腫瘍体積は減少した。両者の腫瘍増殖曲線には有意差を認めた ($P < 0.001$)。CR 導入群の腫瘍はネクローシスが顕著であった。さらにアポトーシス細胞の出現頻度はコントロール群に比べ CR 導入群で有意に増加していた ($P = 0.005$)。マクロファージなどの貪食細胞を引き寄せる milk fat globule EGF factor 8 (MFG-E8) は CR 導入群で増加していた。MFG-E8 は CR 導入群の腫瘍細胞質内あるいは間質細胞内に広く分布し、マクロファージがアポトーシス細胞を貪食している像が蛍光二重染色で確認された。【結論】CR 導入細胞の腫瘍内ではアポトーシス細胞の発現が増加することが確認された。さらに、マクロファージとアポトーシス細胞との間のファゴサイトーシスのためのネクローシスの増加が、CR 導入細胞の腫瘍が自然退縮する機序と考えられた。