

MW-2-2 卵巣および子宮体部の high-grade serous carcinoma の類似性の証明大阪大¹, 新潟大², 医薬基盤研究所免疫シグナルプロジェクト³, 大阪大病理⁴平松宏祐¹, 榎本隆之², 吉原弘祐², 上田 豊¹, 吉野 潔¹, 森井英一⁴, 仲 哲治³, 木村 正¹

【目的】卵巣および子宮体部の high-grade serous carcinoma (HGSC) は進行期症例, 予後不良症例が多いという臨床上類似した特徴を持つ。今回我々は iTRAQ 法を用いて卵巣および子宮体部の HGSC の蛋白プロファイリングを行い, その生化学的類似性を統計学的に評価した。またオントロジー解析を用いて HGSC で有意なカテゴリーを探索した。【方法】32 症例 (HGSC: 卵巣癌 7 例, 子宮体癌 7 例, Endometrioid Grade 1: 卵巣癌 9 例, 子宮体癌 9 例) の凍結切片からマイクロダイセクションにて腫瘍部分のみを回収し, 蛋白を抽出した後, iTRAQ 法による網羅的蛋白解析を行った。蛋白発現値を用いてクラスター解析を行い HGSC の臓器を越えた類似性を統計学的に検証した。またオントロジー解析を行い, HGSC で有意なカテゴリーを探索し, その機能を解明した。【成績】iTRAQ 法により同定した 828 種の蛋白を用いてクラスター解析を行い, 卵巣および子宮体部の HGSC は臓器を越えて類似した蛋白プロファイルを持つことを証明した ($p=0.0007$)。HGSC で有意に高発現な 45 種の蛋白を用いてオントロジー解析を行い, 2 つの有意なカテゴリー (negative regulation of protein metabolic process, DNA replication initiation) を同定した ($FDR<0.3$)。前者では IGFBP2, 後者では MCM2 が最も高発現であった。siRNA を用いてこれらの蛋白の発現を抑制すると細胞増殖が有意に抑制された ($p<0.05$)。【結論】網羅的蛋白解析とクラスター解析により, 卵巣および子宮体部の HGSC は臓器を越えて類似した蛋白プロファイルを示す事を証明した。またオントロジー解析で HGSC に有意な 2 つのカテゴリーを同定し, どちらも増殖に関係することを証明した。

**MW-2-3 BRCA1/2 遺伝子生殖細胞変異例における良性卵管上皮細胞の p53 蛋白発現と TP53 遺伝子変異の意義**

慶應大

赤羽智子, 平沢 晃, 増田健太, 片岡史夫, 富永英一郎, 阪埜浩司, 進 伸幸, 田中 守, 青木大輔

【目的】遺伝性乳癌卵巣癌 (HBOC) の原因遺伝子である BRCA1/2 遺伝子の生殖細胞変異例では, 卵管上皮に出現する p53 発現陽性細胞からの発癌リスクが指摘されている。そこで BRCA1/2 遺伝子生殖細胞変異例の卵管上皮細胞の p53 特性から発癌リスクを検討することを目的とした。【方法】HE 染色標本にて異型の無いことを確認した良性卵管上皮細胞を検討した。HBOC 群として BRCA1/2 遺伝子生殖細胞変異例 9 例 (リスク低減両側卵巣卵管切除術 5 例, 子宮内膜症性嚢胞 1 例, 卵巣癌 3 例), 非 HBOC 群 13 例 (子宮内膜症性嚢胞 9 例, 子宮頸癌 1 例, 子宮筋腫 3 例) を比較した。癌組織は BRCA1/2 遺伝子生殖細胞変異卵巣癌 6 例 (漿液性腺癌 4 例, 類内膜腺癌 2 例) を対象とした。p53 発現を免疫組織化学で検出後, p53 陽性細胞を microdissection 法にて単離し TP53 遺伝子変異を direct sequence で解析した。本研究は本学倫理委員会で承認され患者検体使用の同意を得ている。【成績】HBOC 群の良性卵管上皮の p53 発現は 9/9 例 (100%) の核内に局在し, TP53 変異は 7/9 例 (87.5%) で検出され TP53p.R273H が 6/7 例 (86%) で確認された。卵巣癌組織でも p53 発現は全例の核内に局在し, TP53p.R273H は 5/6 例 (83%) に検出され, 良性卵管上皮は癌と同様の特性を示した。一方, 非 HBOC 群の良性卵管上皮では, p53 発現は 6/13 例 (46%) に発現したが局在は細胞質であり核内には陰性を示し, TP53 変異は全例で検出されず HBOC 群とは特性が異なった。【結論】BRCA1/2 遺伝子生殖細胞変異例の良性卵管上皮に混在する p53 蛋白の核内発現や TP53 p.R273H 変異などの癌細胞と同様の特性を示す形態学的に良性の卵管上皮細胞は卵巣癌の発癌起源細胞となっている可能性がある。

MW-2-4 卵管采から分離した卵管采上皮不死化細胞株の樹立

島根大

中村康平, 中山健太郎, 石川雅子, 佐藤絵美, 原 友美, 石橋朋佳, 石原とも子, 片桐 浩, 折出亜希, 金崎春彦, 飯田幸司, 京 哲

【目的】卵巣癌の発生母地は卵巣表層上皮であるとされてきたが, 卵巣 High-grade 漿液性腺癌の発生母地が卵管上皮であるという概念が最近注目されている。我々は正常卵管采上皮細胞の不死化細胞株, 発癌モデルを樹立し, 分子機構を明らかにすることを目的とした。【方法】良性疾患に対する手術により摘出した正常卵管采の細胞を初代培養した。卵管采上皮細胞に cyclinD1, CDK4, hTERT の遺伝子導入をレンチウイルスベクターを用いて行った。PAX-8, Pancytokeratin, Calretinin のウェスタンブロット法により不死化細胞が卵管上皮細胞由来であることを確認した。非増殖能を確かめるためにソフトアガーアッセイ, ノードマウスへの不死化細胞の皮下注射を行った。【成績】正常卵管采上皮細胞への cyclinD1, CDK4, hTERT の遺伝子導入の結果, senescence が誘導されることなく, 恒常的な細胞培養が可能であることを確認した。ソフトアガーアッセイ, ノードマウスへの皮下注射により不死化細胞の非増殖能を確認した。ウェスタンブロット法では PAX-8, Pancytokeratin は陽性, Calretinin は陰性であり, 不死化細胞が卵管采上皮分泌細胞由来であることを確認した。【結論】正常卵管采上皮細胞の不死化細胞株の樹立に成功した。現在, DNp53, 変異型 KRAS, 変異型 PIK3CA 遺伝子の導入により卵巣 High-grade 漿液性腺癌の発癌モデルを構築中である。