

生殖生理内分泌学部門

Department of Reproductive Physiology and Endocrinology

当部門はヒト・リプロダクションの分子機構及びその異常に基づく疾患の病態の解明，遺伝子診断さらには遺伝子治療の開発を目的に研究している．このため以下の研究プロジェクトに関し教室一丸となって研究に邁進している．

現在，教授・和氣徳夫，助手・今村利朗，加藤聖子，有馬隆博のスタッフの他に，西田純一，西田 眞，儀間朝直，松田貴雄，田村尚也の各医員，八谷俊朗大学院生，坂本隆子助手（帝京大学）の計11名で教室を構成している．宮本新吾助手及び加藤秀則助手はそれぞれNCI及びNIEHSに留学中である．本年4月に福島県立医科大学から研究にきていた本多つよし医員が帰学し，また8月には鹿児島大学から研究にきていた三輪勝洋医員が帰学した．本年10月には帝京大学より坂本隆子助手が約2年間の予定で研究に従事するため当部門に新たに参加した．日頃の健康管理に拘らず長期病欠者の出現等の問題を抱えるも，研究及び診療に日々努力している．

A. アンチセンスオリゴDNAを用いた癌遺伝子発現抑制の検討（今村利朗，西田 眞，坂本隆子，和氣徳夫）

〔目的〕

子宮頸癌の発生過程にヒトパピローマウイルス(HPV)が関与していることは周知であり，特にHPV E6/E7遺伝子は発癌過程および癌形質の維持において必要不可欠の機能を持つと考えられる．このため子宮頸癌細胞でE6/E7遺伝子発現を抑制することが可能であれば，同時に癌形質が抑制される事が予想される．遺伝子発現抑制の手段として，細胞内への取り込みが良好で非特異的毒性のないアンチセンス(AS)オリゴDNAを用いた，HPV E6/E7蛋白翻訳開始領域の塩基配列に相補的なASオリゴDNAを作成し，両遺伝子機能を不活化することにより子宮頸癌細胞の癌形質抑制の誘導を試み，癌遺伝子治療の可能性を検討した．

〔方法〕

1) 子宮頸癌に関連する代表的HPVなタイプ16型と18型について，E6/E7遺伝子蛋白翻訳開始領域の15~20塩基に相補的なASオリゴDNAをホスホロチオエート型として作成し逆相クロマトグラフィーで精製する．2) 同様にFTTC結合型ASオリゴDNAを作成し細胞内移行を経時的にFACS及び蛍光顕微鏡で観察する．3) 対象細胞株としてHPV16型陽性癌細胞株SiHa, HPV18型陽性癌細胞株C4-2, およびHPV16型によりトランスフォームしたヒト角化上皮のPHK16細胞株を用い，対照としてHPV陰性癌細胞株C33a, 正常ヒト角化上皮NHEKを用いる．細胞株培養液にE6及びE7のASオリゴDNAをそれぞれ2.5 μ Mの濃度で添加し，細

胞形態、細胞増殖抑制効果を評価する。4) E7 蛋白産生の抑制を免疫沈降法により解析する。3) 標的 mRNA との二重鎖形成の安定性を高めるために光架橋性分子であるソラーレンを5' 側に結合した AS オリゴ DNA を 1) と同様に作成し、細胞株へ投与する。紫外線 (365nm) 照射を行い 3) と同様の手法で評価する。

[成績]

1) FITC 結合型オリゴ DNA を用い細胞内移行を検討した結果、いずれの細胞株においても投与後 6 時間でほぼ 100% の細胞内へ移行し、投与後 12, 24, 48 時間を経過してもオリゴ DNA は細胞内に十分量存在していた。2) AS オリゴ DNA 添加群の PHK16 細胞および C4-2 細胞では非添加群に比しそれぞれ 68%, 84% の増殖抑制効果が認められ、また殺細胞効果も認められた。E7 蛋白産生も抑制されていた。ナンセンスオリゴ DNA 添加群では細胞増殖は非添加群と変化なく、また HPV 陰性子宮頸癌細胞株 C33a でも増殖抑制効果は見られなかったことから、AS オリゴ DNA の塩基配列特異的な効果と考えられた。3) AS オリゴ DNA 添加群の SiHa 細胞では細胞増殖抑制効果は全く見られず、AS オリゴ DNA の効果が細胞種により異なることが考えられた。4) ソラーレン結合型 AS オリゴ DNA は 0.5 μ M の濃度で SiHa 細胞について非添加群に比し 91% の増殖抑制効果を示した。形態的には細胞が著明に膨化し細胞質内に空胞を多数認め接着性を失い死滅する細胞が多数認められた。ソラーレン結合型 AS オリゴ DNA は NHEK 細胞に対しては全く影響がなく、またソラーレン単独では SiHa 細胞に対する効果は認められなかった。

[結論]

AS オリゴ DNA が細胞内に良く取り込まれ長時間安定して存在し、またその塩基配列特異的な効果により特定の遺伝子発現を抑制させることで癌細胞においても著明な増殖抑制さらに殺細胞効果も得られることが示された。しかし効果は細胞種により異なることなるから、細胞内環境の差異が考えられた。光架橋性分子であるソラーレンを結合させた AS オリゴ DNA は必要なオリゴ DNA 量を顕著に減少させ、高機能化の有効な手段と思われた。アンチセンスオリゴ DNA をソラーレン結合型として作成することより、0.5 μ M と *in vivo* に十分適応可能な低濃度で殺細胞効果が認められ、また紫外線照射併用により架橋を形成するため腫瘍部位にのみ選択的に作用させることが可能と思われる。癌遺伝子発現抑制の有効な 1 手段となりうると考える。

B. HPV E6 関連蛋白のクローニング (西田純一, 松田貴雄, 儀間朝直, 和氣徳夫)

E6 蛋白は転写因子として働き、種々のウイルスプロモーターの転写活性を引き起こす。また変異 E6 を用いた研究により p53 との結合能を欠失した E6 にもトランスフォーム能があることが示された。これらのことは E6-AP 以外の細胞側因子と相互作用する可能性を示唆するものである。そこで E6 と結合するその他の蛋白を同定することを目的として p53 欠失マウスを用

いたクローニングを計画した。in vitro 及び in vivo でのスクリーニングを予定しており、E6 発現ベクター、cDNA ライブラリーを調整中である。

C. HPV によるトランスフォーメーションの解析（西田純一、松田貴雄、儀間朝直、和氣徳夫）

HPV には E6, E7 の 2 つのトランスフォーム遺伝子が存在しヒト角化細胞のトランスフォームにはこの両者が必要である。同様に 2 つの遺伝子が協調してトランスフォーム活性をもたらすウイルスの遺伝子としてアデノウイルス E1a, E1B があり E1a は E7 と、E1b は E6 と癌抑制遺伝子の不活化という点で機能的に類似している。E1a と E1b との協調作用とは、E1a が細胞増殖と同時に p53 蛋白の安定性の増大をもたらし、安定化した p53 蛋白を E1b が不活化するというものである。E1b 非存在下では p53 蛋白の蓄積のため細胞はアポトーシスにより死滅してしまう。従って E1a と E1b の両者がトランスフォーメーションに必要ということになる。そこで HPV E6, E7 ではどのようなメカニズムで協調作用がもたらされるのかを解析する事を目的として以下の実験を計画した。

1) ラット胎児線維芽細胞 (REF) に HPV16 型 E7 (E7), E7+アデノウイルス 5 型 E16 (E16), E7+EJ-ras(ras) を導入した細胞株を用いてアポトーシス inducer に対する反応性を解析する。

2) REF に E7, E7+E6, E7+E16, E7+ras を導入し、免疫細胞染色にて p53, アポトーシスを観察する。

1) 低血清処理にて E7+ras 導入細胞にのみアポトーシスが観察された。さらに詳細に検討中である。

2) 遺伝子導入条件を検討中

D. ヒト扁平上皮細胞における p53 蛋白の機能（西田純一、松田貴雄、儀間朝直、和氣徳夫）

p53 蛋白の機能として G1 期停止およびアポトーシスによる細胞死の誘導が知られている。しかしこれらは同一の経路により誘導される異なる表現型であるのか否かは不明である。このため本研究では野生型 p53 蛋白を発現する細胞と p53 蛋白が不活化しているヒト扁平上皮細胞で p53 蛋白発現、G1 期停止および細胞死の誘導を解析し、同上皮細胞における p53 蛋白の機能について検討した。野生型 p53 を発現する細胞として NHEK (正常ヒト角化細胞), HWCA (子宮内膜癌細胞), p53 蛋白機能が不活化されている細胞として C33A (変異型 p53 遺伝子), PHK16 I, PHK16 II (HPV16 型フルゲノムの導入により永代増殖能を獲得したヒト角化細胞), SiHa (HPV16 型ゲノムを含む子宮頸癌細胞) を用いた。DOXY 添加後の p53 蛋白の蓄積、細胞周期、アポトーシスをそれぞれウエスタンブロット、フローサイトメリー、アガロースゲル電気泳動にて観察した。NHEK, HWCA にのみ p53 蛋白の蓄積および G1 期停止が観察された。フローサ

イトメリー上全ての細胞で subG1 fraction が観察されたが、DNA ラダーが認められたのは N HEK, HWCA のみであった。G2期停止は全ての細胞で観察された。従って p53機能が保持されている細胞のみ DNA damaging agent による p53蛋白の蓄積、G1期停止、DNA ラダーが観察されたが、p53機能が不活化されている細胞においてはこれらの現象は認められなかった。以上の結果扁平上皮細胞での p53蛋白は G1期停止およびアポトーシスによる細胞死の誘導の両方に関与することが示唆された。

E. 子宮内膜癌細胞における Ras 蛋白の変異と増殖シグナルとの関連

(加藤聖子, 西田 眞, 八谷俊明, 和氣徳夫)

[目的]

子宮内膜癌細胞株を用い Ras 遺伝子変異の有無と細胞株の EGF に対する反応の関連を検討した。

[方法]

1) 野生型 Ki-Ras 蛋白を発現している Ishikawa 株 (以後 IK 株) と [¹²⁵I]Ki-Ras 蛋白を発現している HHUA 株の EGF 刺激後の GTP/GDP 比を解析した。2) 哺乳類発現ベクターに組み込まれた Ki-Ras4B および [¹²⁵I]Ki-Ras cDNA を IK 株に形質導入し、野生型および変異型 Ras 蛋白を強制発現している IK 株を作成した (以後それぞれ IKKwt 株, IKK12V 株)。3) IK 株, IKKwt 株, IKK12V 株, [¹²⁵I]Ki-Ras 遺伝子が検出された HHUA 株, HOUA 株を 0.1 % FCS/DMEM で 2 日間培養後 10ng/ml EGF を添加し、3 日後の生細胞数を計測した。4) 培養液中に EGF-レセプター阻害剤であるエルプスタチン (1 μg/ml) を投与し、非投与群を対照として軟寒天培地でのコロニー形成率を比較した。

[成績]

1) Ishikawa 株は EGF 依存性に Ras 蛋白の活性化 (GTP 比の上昇) が見られるのに対し、HHUA 株は有意な変化が見られなかった。2) 細胞静止期環境下で、IK 株, IKKwt 株では EGF 依存性に細胞増殖促進効果がみられたが、IKK12V 株, HHUA 株, HOUA 株では有意な差はみられなかった。3) 足場非依存性細胞増殖のエルプスタチンによる抑制効果は、IK 株, IKKwt 株は著明に認められたが IKK12V 株では抑制率は低下し、HHUA 株, HOUA 株は有意な抑制は認められなかった。

[結論]

1) 子宮内膜癌細胞の EGF に対する反応の違いに Ras 蛋白の変異が関与していることを明らかにした。2) EGF レセプター阻害剤は野生型 Ras 蛋白を発現している細胞株に対して抑制効果を示すため、治療法への応用が示唆された。

F. Genomic imprinting を受けるヒト胎盤遺伝子の同定

(有馬隆博, 松田貴雄, 和氣徳夫)

最近, 種々の遺伝子疾患や癌発性にゲノムインプリンティングの関与が認識されつつある. 父親伝達ゲノムあるいは母親伝達ゲノムは, 各々特異的な非遺伝的修飾を受け, 初期胚の細胞分化に重要な影響を及ぼすことが知られている. 胎盤形成過程においては, 父親伝達ゲノムが重要であるとされている. 我々は, 主としてマウスのインプリンティングマップの情報をもとに, 発生, 分化に係わる遺伝子, 癌化, 老化に係わる遺伝子を約20種類選択し, 雄性発生を原因とする胞状奇胎と正常ヒト絨毛組織における発現量の比較を PT-PCR 法を用いてスクリーニングをした. さらに, Exon 内に DNA 多型を有するものについては, RFLP を用いてインプリンティングを確認した. 現在までに, 正常ヒト絨毛組織で, IGFII 遺伝子は父親ゲノムの, H19 遺伝子は母親ゲノムの mRNA の発現が増大していることを確認した. さらに, 約20種類の遺伝子について現在検討中である.

G. 睾丸性女性化症候群におけるアンドロゲン受容体遺伝子の変化

(有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫)

睾丸性女性化症候群(TF)は46XY 男性型であるにもかかわらず, 表現型が全く女性である. また同疾患は, アンドロゲン受容体遺伝子の異常により発症するとされている. 我々は TF の 7 家系のアンドロゲン受容体遺伝子変異について解析を行っている. さらに, 家系調査を行い, 変異遺伝子の遺伝形式について解析を行っている. 現在まで 5 症例について解析し, 4 例はステロイド結合領域に, 1 例は DNA 結合領域に点突然変異を認め, アミノ酸置換をおこしていることが判明した. 今後更に詳細に同疾患の病態について解析していく予定である.

H. DNA 多型解析による絨毛癌の発生起源に関する検討

(有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫)

絨毛癌は, 胞状奇胎や種々のタイプの妊娠に続発することは臨床的によく知られた事実である. 我々は本腫瘍の責任妊娠について, RFLP 解析を行ったところ, 先行妊娠が胞状奇胎であるにもかかわらず, 責任妊娠はそれ以前の正常妊娠由来である症例が判明した. このため従来考えられていた絨毛癌の発生機構とは異なる症例群が存在すると思われ注目された. そこで本研究では絨毛癌30例の発生起源について, パラフィン固定された腫瘍組織片あるいは微量の絨毛癌組織より DNA を抽出し polymorphysm を呈する部分を PCR にて増幅させ Southern blot 法, dot blot 法, SSCP 法にて多型解析を行い, 同腫瘍の責任妊娠の同定を行っている. 現在のところ, 臨床上前行妊娠と異なる症例が 4 例認められた. また, 妊娠の既往がない症例では絨毛癌組織の DNA で, 患者の一方のアリルがみられるものと, 両方のアリルがみられるものが存在し, これは第 1 減数分裂後の未受精卵に由来する非妊娠絨毛癌であることが予想された. さ

らに胞状奇胎を先行妊娠とする8例のうち2例はヘテロ接合を示した。今後更に詳細な検討を行っていく予定である。

I. HPVE7領域を介した細胞形質転換過程におけるアクチンアイソフォームの変化

(西田 眞, 坂本隆子, 今村利朗, 和氣徳夫)

ヒトパピローマウイルス(HPV)E7は, Rb 蛋白と結合して子宮頸部癌化に関与すると考えられるが, その機能は未だ不明の点が多く, その他の細胞側因子に作用する可能性もある。そこで, HPVE7と細胞骨格蛋白の変化の関連を検討した。その結果, 1) ラット胎仔初代培養線維芽細胞に HPV16型 E7を遺伝子導入すると, 平滑筋型 (SM) α -actin の発現が mRNA および蛋白レベルで減少した。2) SM α -actin promoter-CAT fusion plasmid と HPV16型 E7発現 plasmid を用いた CAT assay を施行した結果, E7により SM α -actin promoter 活性が抑制された。この抑制効果は SM α -actin promoter の nt-123から-39の領域を含む CAT plasmid のみに認められた。3) HPV6型, 16型, 18型 E7の発現 plasmid を用いて同様の CAT assay を施行したところ, E7による CAT 活性の抑制は HPV16型と18型のみ認められた。4) HPV の自然宿主であるヒトケラノサイト(NHEK)および HPV16型全遺伝子導入により不死化したヒトケラチノサイト(PHV16) について actin 蛋白総量および細胞質 β -actin の mRNA の量的変化を検討した結果, PHK16細胞では NHEK に比較して, actin 蛋白総量と β -actin mRNA 量の減少を認めた。以上より, HPV16, 18型 E7は SM α -actin promoter の特定の領域を介してその転写を抑制し, Rb 蛋白との結合能が低い HPV6型 E7に抑制効果がなかったことから, この機構に Rb 蛋白が関与することが示唆された。また, PHK16細胞において actin 蛋白量と細胞質 β -actin mRNA 量の減少を認めたことより, 子宮頸部癌化過程において HPVE7は actin isoform 遺伝子の発現を調節している可能性が示された。現在, この転写調節機構についてさらに詳細に検討中である。

J. 子宮内膜癌細胞株における DCC 遺伝子の変異

(儀間朝直, 今村利朗, 西田純一, 松田貴雄, 和氣徳夫)

DCC 遺伝子の存在する18番染色体長腕の allelic loss や DCC mRNA の発現量を解析した結果, その不活化が子宮内膜の癌化過程に関与していることが示唆された。今回我々は子宮内膜癌における DCC 遺伝子の変異をさらに詳細に検討するため, 細胞株における DCC 遺伝子の塩基配列の解析を行った。その結果, HOOUA 株では片方のアレルの exon 内に約800bp の fragment の挿入を認めた。また両方のアレルの codon 201で1塩基置換を認めたが, 点突然変異によるものか或いは多型であるかの鑑別は不能であった。これらの遺伝子変異が DCC 遺伝子の発現変化を導き, 子宮内膜の癌化過程に関与していることが示唆された。

K. 絨毛癌抑制遺伝子単離の試み (松田貴雄, 有馬隆博, 和氣徳夫)

絨毛癌細胞の造腫瘍性抑制にかかわるヒト染色体の同定を目的とし、ヒト絨毛癌細胞 (CC1) に正常ヒト7番染色体 (CC1#7) を単一移入し、足場非依存性増殖の著明な抑制および細胞倍加時間の延長が観察されたことを報告した。また、ヒト7番染色体上には、ERV3, H-plk など絨毛癌の抑制に関わる遺伝子の存在も報告されている。ヒト絨毛癌で発現の欠如している遺伝子、あるいはその発現を抑制する転写制御因子の増加する遺伝子がヒト7番染色体上に存在すると考え、以下の2つの異なるアプローチをもって特異的に発現している遺伝子の単離を試みた。

i) ディフェレンシャルディスプレイ法を用いたアプローチ

CC1とCC1#7より、RNAを抽出し、それぞれオリゴdTと12塩基よりなるアービタリープライマーを用いたRT-PCRを施行し、3'末端に特異的なPCR産物を作製した。PCRの特性上100~300前後のPCR産物が非特異的に産性されるが、これをシークエンスゲルにて電気泳動を行ない、両細胞間で発現の異なるバンドを検出した (ディフェレンシャルディスプレイ法)。この方法はこれまでのcDNAライブラリーを用いたサブトラクション、ディフェレンシャルハイブリッド法によるそれぞれの欠点を補い、また、3'特異的な遺伝子の増幅のみ行われるので容易にかつ特異的に発現量の差のある遺伝子を同定することが可能である。これまでに、約20種類の特異的なバンドを検出し、現在その遺伝子配列の決定と絨毛癌細胞の造腫瘍性抑制との関連について検索中である。またこの方法を用いて正常絨毛と胎状奇胎の遺伝子発現の差異も検討している。

ii) 7番染色体特異的なコスミドライブラリーを用いたアプローチ

ヒト7番染色体をセルソーターを用いて、デュアルレーザー方式の染色体ソーティングによって単離して、これをコスミドにつないでヒト7番染色体特異的なコスミドライブラリーを作製中である (慶応大学分子生物学清水信義先生との共同研究)。

これまでに絨毛癌の抑制に関わる遺伝子としてヒト7番染色体のERV3, H-plkなどが挙げられている。しかしながら、これらが直接、絨毛癌の抑制に関わっているとは考えにくく、その近傍に存在する遺伝子と挙動を共にする為に起こり得た現象と考え、これらをプローブとしてコスミドを捨て、その近傍に存在する遺伝子について、まず、エクソントラップ法を用いて機能遺伝子か確認し、確認できたコスミドクローンを導入実験によって抑制遺伝子たるかを検討していく予定である。また、その近傍のマッピングも行っていく。さらに(1)によって候補遺伝子が同定されればその単離にも利用する予定である。またマウスF9の分化誘導に伴う遺伝子も7番染色体上に存在することが確認されており、これに関しても検討していきたい。

L. ヒト子宮体癌における細胞周期調節機構の解析 (八谷俊明, 今村利朗, 和氣徳夫)

p53遺伝子機能の不活化は多くのヒト悪性腫瘍の発生に關与する。頻度は低いが、子宮体癌でも p53遺伝子に隣接した領域の欠失及び残存アリルにおける点突然変異が觀察される。しかし、これらは全て子宮体癌進行症例でのみ認められたため、p53遺伝子機能の不活化は子宮体癌のプログレッションに關与すると示唆された。老化細胞から単離された Sdi 1は cyclin-Cdk2複合体のキナーゼ活性を抑制することが最近明らかにされた。Sdi1は p53蛋白の下流で機能し G1期から S期への移行を負に調節することが推測されている。このため癌化過程で Sdi 1に生ずる変異は p53遺伝子機能の不活化と同様の役割を果たすことが予想される。我々は子宮体癌の手術標本を用い PCR-cycle sequence 法で Sdi 1遺伝子変異の有無を解析し、G1-S期移行の負の調節シグナルの不活化が子宮体癌の発生にかいに關与するかを現在研究中である。

M. ヒト卵巣癌における癌抑制遺伝子 p53不活化について (坂本隆子, 西田 眞, 今村利朗, 和氣徳夫)

p53の不活化は多くの癌で報告されており、広範囲な腫瘍の発生や進展に關与すると考えられているが、卵巣癌での報告は少ない。また卵巣癌では以前より第17染色体短腕部 (17p) のヘテロ結合性の消失 (LOH) が高頻度に認められることより、同部位またはその近傍に、卵巣癌の発生、進展に關与する癌抑制遺伝子の存在が示唆されている。そこで本研究では卵巣癌を対象に、p53の不活化を LOH と mutation の両面から検討し、卵巣癌における p53の不活化の意義について考察した。更に17p13.1に存在する p53の LOH と、以前より報告のある17p13.3の LOH を同一症例上で比較することで、17p13.3の LOH と p53の不活化の關係についても検討を加えた。30例の上皮性卵巣癌を対象に、腫瘍組織と正常組織より DNA を抽出し、p53の cDNA プローブまたは pYZ22プローブ (17p13.3) を用いた Southern blot 法で LOH を検出した。また p53の LOH については第 4 exon 内の polymorphism を利用した PCR-RFLP による検討もあわせて行った。p53の突然変異は PCR-SSCP 法により第 4 ~ 9 exon について検討した。p53の LOH は informative な症例18例中33%であり、PCR-SSCP 法では30例中 7 例 (23%) でバンドシフトを認めた。これらの症例ではシークエンスにより突然変異を確認中である。またバンドシフトがあり、かつ残存する allele が informative なものは 3 例でこのうち 2 例で LOH を認めた。17p13.3の LOH は informative な症例25例中 9 例 (36%) と高頻度であったが、p53の LOH との間には有意な相関があった。以上より、卵巣癌の発生、進展には p53の不活化が關与する例があることが判明した。またその不活化の様式は 1 つの allele と残存する allele の突然変異であると考えられた。また卵巣癌で高頻度に見られる17p1 3.3の LOH の背景には p53とは異なる癌抑制遺伝子の存在より、むしろ p53の LOH が存在することが示唆された。

原著論文

1. Honda,T., Kato,H., Imamura,T., Gima,T., Nishida,J., Sasaki,M., Hoshi,K., Sato,A. and Wake,N. 1993.
Involvement of p53 gene mutations in human endometrial carcinomas.
Int. J. Cancer 53, 963-967.
2. Wake,N., Gima,T., Nishida,J., Arima,T., Imamura,T., Nishida,M., Kato,K., Matsuda, T., Tamura,T., Hachiya,T., Sakamoto,T. and Oshimura,M. 1994.
Accumulation of genetic events in endometrial carcinoma and its cell growth inhibition by antisense oligonucleotide complementary to the mutated K-ras gene.
Cancer Mol. Biol. 1, 145-156.
3. Gima,T., Kato,H., Honda,T., Imamura,T., Sasazuki,T. and Wake,N. 1994.
DCC gene alteration in human endometrial carcinomas.
Int. J. Cancer 57, 480-485.
4. Arima,T., Imamura,T., Amada,S., Tsuneyoshi,M. and Wake,N. 1994.
Genetic origin of malignant trophoblastic neoplasms.
Cancer Genet. Cytogenet. 73, 95-102.
5. Miyamoto,S., Nishida,M., Miwa,K., Kato,H., Imamura,T., Carl Barrett,J., Simizu,M., Oshimura,M., Oshimura,M. and Wake, N. 1994.
Cytoskeletal changes in human endometrial carcinoma cells following introduction of a human chromosome 1 via microcell fusion.
Mol. Carcinogenesis 10, 88-96.
6. Nishida,M., Miyamoto,S., Kato,H., Miwa,T., Imamura,T., Miwa,K., Yasumoto,S., Carl Barrett,J. and Wake,N.
Transcriptional repression of actin-isoform genes associated with human papillomavirus type 16E7 expression.
Mol. Carcinogenesis (in press).

総説

1. 和氣徳夫、佐々木雅弘、押村光雄. 1993.
絨毛癌の造腫瘍性抑制に関わる染色体の同定.
Oncology & Chemotherapy, 132-136.
2. 今村利朗, 和氣徳夫. 1993.
子宮体癌の遺伝子診断と遺伝子治療.
臨床婦人科産科. 1404-1405.

3. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫. 1993.
染色体異常と妊娠.
臨床婦人科産科. 1182-1183.
4. 西田 眞, 和氣徳夫. 1994.
カドヘリンの機能と構造.
Oncology & Chemotherapy. 10, 9-13.

学会発表

1. 和氣徳夫. (1993.1/16-1/17)
がんの遺伝子診断と治療.
日本産婦人科学会・鹿児島地方部会 特別講演, 鹿児島.
2. 本多つよし, 西田 眞, 和氣徳夫. (1993, 2/20)
婦人科手術後の骨粗鬆症について.
第3回中高年婦人科研究会, 鹿児島.
3. 田村尚也, 和氣徳夫. (1993, 4/25)
正常卵巣及びPCOにおけるP-450 arom, P-450 17 α , hyaseの発現について.
第4回日本不妊学会九州支部会, 大分.
4. 宮本新吾, 加藤秀則, 今村利朗, 三輪勝洋, 西田 眞, 和氣徳夫, 村上 章, 牧野圭祐.
(1993, 4/10-4/13)
アンチセンスDNAによる子宮頸癌細胞株の増殖抑制効果とその細胞内取り込みに関する研究.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
5. 加藤秀則, 儀間朝直, 本多つよし, 佐々木雅弘, 西田純一, 押村光雄, 和氣徳夫. (1993.
4/10-4/13)
ヒト1番染色体特異的cDAM発現ライブラリーを用いた子宮内膜癌増殖抑制遺伝子単離の試み.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
6. 今村利朗, 有馬隆博, 加藤聖子, 田村尚也, 和氣徳夫. (1993, 4/10-4/13)
子宮体癌におけるNeurofibromatosis type I (NF1) 遺伝子.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
7. 田村尚也, 今村利朗, 加藤聖子, 有馬隆博, 和氣徳夫. (1993, 4/10-4/13)
子宮内膜癌におけるエストロゲン及びプロゲステロンレセプター遺伝子の変異.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
8. 加藤聖子, 加藤圭次, 今村利朗, 田村尚也, 有馬隆博, 和氣徳夫. (1993, 4/10-4/13)

- 子宮内膜癌細胞の増殖における ras 蛋白, ステロイドホルモン, EGF の関与.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
9. 三輪勝洋, 宮本新吾, 加藤秀則, 今村利朗, 本多つよし, 西田 眞, 和氣徳夫. (1993, 4/20-4/13)
子宮頸癌における human papilloma virus (HPV) 感染と p53遺伝子変異との関連.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
10. 本多つよし, 有馬隆博, 今村利朗, 加藤聖子, 田村尚也, 和氣徳夫. (1993. 4/10-4/13)
睾丸生女性化症候群におけるアンドロゲン受容体遺伝子の変化.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
11. 儀間朝直, 加藤秀則, 本多つよし, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 4/10-4/13)
子宮内膜癌における DCC 遺伝子の発現変化.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
12. 有馬隆博, 今村利朗, 加藤聖子, 田村尚也, 和氣徳夫. (1993, 4/10-4/13)
DNA 多型解析による絨毛癌の発生起源について.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
13. 西田 眞, 宮本新吾, 加藤秀則, 今村利朗, 三輪勝洋, 和氣徳夫. (1993, 4/10-4/13)
HPV16型 E7領域を介したラット胎仔初代培養線維芽細胞の形質転換過程における細胞骨格の変化.
第45回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 大阪.
14. 和氣徳夫 (1993, 6/17-6/18)
絨毛癌化の分子機構.
第11回絨毛性疾患研究会「シンポジウム」, 神戸.
15. 儀間朝直, 加藤秀則, 本多つよし, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 6/11)
子宮内膜癌における DCC 遺伝子の不活化およびその機構.
第4回産婦人科 DNA プローブ研究会学術集合, 大阪.
16. 今村利朗, 加藤聖子, 和氣徳夫 (1993, 6/24)
アンチセンス DNA による子宮頸癌細胞株および HPV16導入不死化細胞株の増殖抑制効果.
文部省がん特別総括班ワークショップ「癌化学療法 of 分子標的」, 東京.
17. 西田 眞, 三輪勝洋, 加藤聖子, 吉河康二, 和氣徳夫. (1993, 6/19-6/20)
42歳女性に発症した子宮頸部胎児型横紋筋肉腫の一例.
第42回日本産科婦人科学会九州連合地方部会, 沖縄.
18. 和氣徳夫. (1993, 7/29-7/30)
変異遺伝子をターゲットとした遺伝子治療.
第22回日本婦人科病理コルポスコピー学会「シンポジウム」, 東京.

19. 今村利朗. (1993, 7/23)
子宮体癌発生過程での遺伝子変化.
がん特別研究・田矢班「癌抑制遺伝子産物の生理機能」班会議, 東京.
20. 和氣徳夫. (1993, 8/2)
がんの遺伝子診断と治療.
函館産婦人科医会 特別講演, 函館.
21. 西田 眞, 宮本新吾, 加藤秀則, 今村利朗, 三輪勝洋, 和氣徳夫. (1993, 10/5-10/7)
ヒトパピローマウイルス16型 E7領域による平滑筋型 α -アクチン遺伝子の転写抑制.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
22. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 10/5-10/7)
PCR 多型解析による絨毛癌の発生起源.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
23. 加藤聖子, 加藤圭次, 眞壁 理, 和氣徳夫. (1993, 10/5-10/7)
子宮内膜癌細胞株におけるアザチロシンの効果.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
24. 儀間朝直, 加藤秀則, 本多つよし, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 10/5-10/7)
子宮内膜癌における DCC 遺伝子の不活化.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
25. 加藤圭次, 加藤聖子, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 10/5-10/7)
子宮内膜癌細胞増殖における ras 蛋白ステロイドホルモン, EGF の関与.
第52回日本癌学会総会, 仙台.
26. 和氣徳夫. (1993, 10/7)
細胞の形態変化の分子機構と増殖抑制.
東北大学医学部産婦人科招請講演, 仙台.
27. 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 10/21-10/23)
子宮体癌発生過程における遺伝子変異とその臨床対応.
第38回日本人類遺伝学会「シンポジウム」, 東京.
28. 加藤秀則, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 10/27-10/29)
HPV16E6E7に対するアンチセンス DNA による子宮内膜癌細胞株および HPV16導入不死化細胞の増殖抑制効果.
第31回日本癌治療学会総会, 大阪.
29. 加藤聖子, 和氣徳夫. (1993, 10/27-10/29)
子宮内膜癌細胞株におけるアザチロシンの効果.
第31回日本癌治療学会総会, 大阪.

30. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫. (1993, 11/4-11/5)
PCR 多型解析による絨毛癌の発生起源.
第1回日本胎盤研究会総会, 大阪.
31. 和氣徳夫. (1993, 12/10)
細胞の形態変化の分子機構と増殖抑制.
京都大学医学部産婦人科招請講演, 東京.
32. Norio Wake (1993, 11/23-11/25)
Accumulation of genetic events in endometrial carcinoma and its cell growth inhibition
by antisense oligonucleotide complementary to the mutated K-ras gene.
The Second International Cancer Molecular Biology Symposium, Egypt.