

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としている。このため以下の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、加藤秀則、加藤聖子、有馬隆博、西田純一のスタッフのほか、儀間朝直、八谷俊朗、上岡陽亮の各医員、鹿沼達哉助手（群馬大学）、清水篤講師（昭和大学）、松田貴雄（日本学術振興会 特別研究員）の計11名で教室を構成している。

人事異動

9月に昭和大学より清水篤講師が、米国 NIEHS より加藤秀則先生が帰国した。4月に坂本貴子助手、村瀬隆之医員が帝京大学へ、西田眞医員が国立別府病院へ移動した。

A. DCC 遺伝子再発現による子宮内膜癌細胞株（HHUA）の造腫瘍性の抑制（加藤秀則、儀間朝直、西田純一、和氣徳夫）

子宮内膜癌では高率に DCC 遺伝子発現が消失している。このために DCC 発現の欠損している子宮内膜癌細胞で DCC を再発現し、表現形質の変化を解析した。このため、① DCC 発現ベクター（DCC-CMV-S）を DCC の発現が欠損している内膜癌細胞株 Ishikawa, HHUA に導入し、G418にてコロニーの選択を行った。② RT-PCR またはウエスタンブロットにて DCC の再発現が確認された 3 クローンを選び *in vitro* 及びヌードマウスでの細胞増殖特性を、ベクターのみを導入したコントロール及び親株と比較した。その結果 HHUA では、ウエスタンブロットでは発現が検出されず、RT-PCR でのみ検出される発現量の低いクローンのみがクローニング可能で、① DCC 導入クローンではコントロールと比較し、飽和密度は 57.0～64.7% に低下したものの、細胞増殖速度と軟寒天培地でのコロニー形成能は変わらなかった。親株及びコントロールがそれぞれ 100%、89.0% のマウスに腫瘍を形成したのに対し、3 クローンはそれぞれ 50.0%、16.7%、0% の造腫瘍性を示した。また腫瘍を形成したクローンは、コントロールに比較し、腫瘍増殖速度が低下していた。② DCC 導入クローンの移植後形成された腫瘍で DCC の発現を検討したところ、すべての腫瘍で発現が消失していた。

また Ishikawa では、ウエスタンブロットで正常子宮内膜と同程度の発現が検出される 3 クローンが得られ、これらの DCC 導入 Ishikawa 細胞はアポトーシスを起こしていることが判明した。以上のことより、DCC の発現は子宮内膜の正常増殖を制御していること、及び DCC の発現の消失が、造腫瘍能の獲得に第一義的な意味を持つと推測された。現在 DCC による Apoptosis 誘導の機序について、また正常月経周期における内膜増殖サイクルの調節にどのよ

うに関与しているのかについて検討を加えている。

表 A Growth Character of DCC Transfected Clones

clone	Generation	Saturation Density	AIG(%)	Tumorigenesis in Nude Mice (latency*)	DCC expression	
	Time(hrs.)	(x 10 ⁵ /cm ²)			RT-PCR	WB
HHUA	43.7	6.7	11.6	5/5 (53.4)	—	—
CT	59.0	6.8	11.0	7/8 (58.1)	—	—
CL7	49.2	3.9	12.0	4/8 (68.7)	+	—
CL9	41.7	4.0	10.2	1/6 (119.0)	+	—
CL11	79.1	4.4	13.0	0/7	+	—
ISHIKAWA	25.7	3.4	8.7	4/4 (72.3)	—	—
CT	33.4	3.0	6.8	4/4 (89.7)	—	—
CL55	166.3	2.7	0.3	0/4	N.P.	+
CL519	N.D.	N.D	0	0/4	N.P.	+
CL528	N.D(305.6)	N.D	0	N.P.	N.P.	+

*Days for reaching to 4180 mm³

N.D. ; can not be determined

N.P. ; not performed

B. ヒト1番染色体上の細胞老化遺伝子のクローニング (加藤秀則, 松田貴雄, Minoru Koi*, P.J.Vojta*, J.C.Barrett* (*米国 NIEHS))

ヒト1番染色体上には子宮内膜癌細胞株 (HHUA, Ishikawa) のみならず, Group A 群といわれる一連のトランスフォーム細胞, ハムスター不死化細胞 (10W) 等を老化に導く遺伝子が存在する. この (これらの) 遺伝子をクローニングすることを最終目的として以下の実験を行っている.

a. Subchromosomal Transferrable Fragment (STFs) の作製とその老化誘導活性

Group A 群にヒト1番染色体を導入すると細胞死 (senesense) を引き起こすが, この中から再び増殖を始める revertant を得, この細胞より, 導入した1番染色体を回収し分析したところ長腕の D1S498から412の間に欠失が認められた (図; del 1q). この del 1q を HHUA に導入したところ, 細胞死を引き起こした. 従って1番染色体上には少なくとも, 2つの異なる細胞老化誘導遺伝子が存在すると考えられた. 1番染色体短腕の HHUA への導入結果と, 1番染色体入10w細胞の revertant の結果より, その活性が del 1q の持つ長腕遠位部に存在すると推測された. また, この老化活性はテロメレーズの活性抑制を伴う事も明かとなった. 続いて, この長腕部分を放射線照射で処理した後, 各種欠失を持つ STFs を作製した (図). 現在これらの活性を HHUA を場として検討しており, 活性のあった STF により YAC.あるいは BAC

conting を得, positional cloning を行う予定である。

b. 1 番染色体導入を行った HHUA のうち, revertant クローン12株を得た。これらのクローンについての前述の a) の領域について STS マーカーによる PCR 解析を行い, 共通欠失領域を同定している。a) の結果と併行して positional cloning のターゲットの決定に供する予定である。

	1 neo	del 1q	1 BM	14 E1	30 A3	14 E2	10 B2		
SENESCENCE									
HHUA	+	+	-		+		-		
10W	+	+	-	-	+	-	-		
CENTROMERE									
D1S187									
D1S418									
D1S440									
D1S534									
PROXIMAL BREAK POINT IN A9 DEL1Q CHROMOSOME									
D1S498									
D1S305									
D1S303									
SPTA1									
CRP									
D1S484									
APOA2									
D1S104									
D1S194									
D1S240									
D1S191									
D1S518									
D1S461									
D1S422									
DISTAL BREAK POINT IN A9 DEL1Q CHROMOSOME									
D1S412									
D1S310									
D1S510									
D1S249									
D1S505									
D1S237									
D1S227									
D1S549									
HLX									
D1S225									
D1S103									
D1S459									
D1S446									
ACTN2									
D1S547									
D1S1609									
D1S180									
D1S102									
D1S68									

RETAINED
 DELETED

図B

C. Ras を介する腫瘍形成能とステロイドレセプターの発現とその関連（加藤聖子，上岡陽亮，八谷俊朗，和氣徳夫）

ヒト癌の発生に重要と考えられる Ras と癌の発育に影響を与えているステロイドホルモンの細胞内情報伝達系における関連を検討している。

〔方法〕1) 野性型 Ki-Ras 蛋白，〔¹²⁵IVal〕Ki-Ras 蛋白およびエストロゲンレセプター（ER）を発現している NIH3T3細胞株を樹立し（それぞれ Kwt，K12V および ER 細胞とする。）ER の発現の変化をノザンプロット，ウエスタンプロット，免疫染色法で解析した。2) プロモーター領域に estrogen responsible element（ERE）配列をもつ CAT ベクターを作成し，上記細胞株に形質導入し，CAT 活性を調べた。3) 〔¹²⁵IVal〕Ki-Ras 蛋白とプロゲステロンレセプター（PR）を同時に発現している NIH3T3細胞（K12VPR 細胞）を樹立し，K12V 細胞との間でコロニー形成能及び CAT 活性の変化を比較した。

〔成績〕1) K12V 細胞では NIH3T3細胞及び Kwt 細胞に比べ，ER の発現の増加がみられた（図 C）。K12V 細胞の ER は核及び細胞質の両方で発現し，核内に集積している ER 細胞との間で ER の分布に相違がみられた。2) K12V 細胞では E2依存性に CAT 活性の上昇がみられ，誘導された ER は機能していることが示唆された。3) K12VPR 細胞は K12V 細胞に比べ形態は扁平化しコロニー形成は抑制されていた。また CAT 活性も低下していた。

〔結論〕1) 変異型 Ras 蛋白を発現している NIH3T3細胞では ER の発現の誘導がみられ Ras と ER との間にクロストークがあることが示唆された。2) PR は変異型 Ras が誘導する ER を介する機能に拮抗し，Ras を介する腫瘍形成能を抑制することが示唆された。

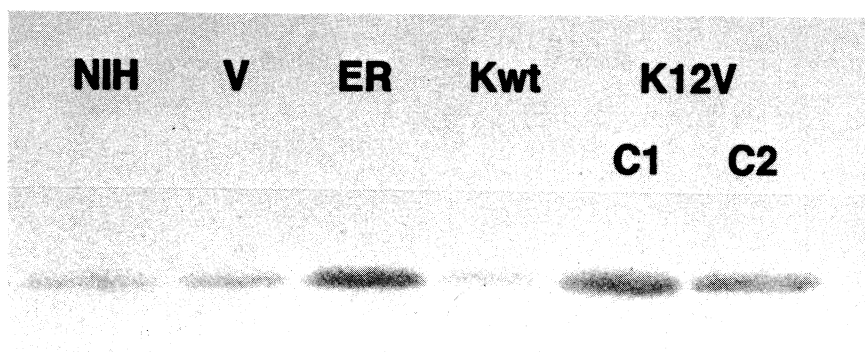


図 C

D. トランスフォーメーションにおける E7 の機能（西田純一，儀間朝直，鹿沼達哉，加藤秀則，和氣徳夫）

アデノウイルス E1a は，HPV E7 と相同性を有する領域をもち，細胞内標的も E7 と極めて類似している．E1a は細胞増殖を導くとともに p53 を介しアポトーシスを細胞にもたらす．本研究では HPV による癌化機構を解明することを目的とし，E1a と相同性の高い E7 が E1a と同様の機能を有するか否かについて検討を行った．E1a を単独に発現する細胞はアポトーシス誘導シグナルに対し，極めて高感受性である．そこで E7 単独発現細胞，E7 及び AdE1b 発現細胞を作成し，解析を行った．

ラット胎仔線維芽細胞（REF），REF に HPV16 型 E7 を導入した TF-1，REF に E7 及び Ad5 型 E1b を導入した TF3 を作成した．TF3 は E1b の発現によりアポトーシス抵抗性を示すポジティブコントロールとして用いた．それぞれ，細胞に p53 誘導能を有する Sodium Butyrate（S. B.）処理を行い解析を行った．

SB 処理により全ての細胞で p53 蛋白の蓄積とともに waf1 mRNA 発現量の増大，G1 arrest が観察された．従って誘導された p53 は本来の機能を有していると考えられた．SB 処理細胞の 24 時間後の viability は，REF，72%，TF-1，101%，TF-3，96% であった．DNA フラグメンテーションは REF にのみ観察された．従って TF-1 は TF-3 と同時に，p53 誘導によるアポトーシスを抑制する機能を有することが示され，E7 がアポトーシスを回避する機能を有することが示唆された．アポトーシスを制御する bcl-2 family のうち bcl-2 蛋白にのみ発現の変化が観察された．bcl-2 蛋白は，REF には発現が認められなかった．TF-3 は TF-1 に比べ過剰な bcl-2 蛋白の発現が認められた．SB 処理により bcl-2 蛋白の誘導が観察されたのは TF-1 のみであった．従って，TF-1，TF-3 においては bcl-2 を介してアポトーシスが回避されていることが示唆された．発現している bcl-2 蛋白量と mRNA 量との間には一定の関係が認められなかった．そのため，SB 処理により蛋白量の変化が観察された TF-1 を用いて bcl-2 蛋白の安定性について検討した．SB の存在の有無に関わらず，bcl-2 蛋白はほぼ同様の安定性を示したが，ラベルされた bcl-2 蛋白量は SB の存在で著明に増加していた．したがって，bcl-2 蛋白の過剰発現は翻訳の促進によると考えられた．この翻訳の促進による bcl-2 の過剰発現は E7 の存在下でのみ観察されたことから，E7 は bcl-2 蛋白の翻訳に影響を及ぼすことが示唆された．また，bcl-2 の過剰発現は E7 の存在下で p53 蛋白が過剰発現している場合にのみ観察されることから，E7 は p53 と相互作用をする可能性も考えられる．以上の結果より以下のことが示唆された．1）E7 は bcl-2 誘導能を有し，bcl-2 を介してアポトーシスを回避する機能を有する．2）E7 の存在は bcl-2 蛋白の翻訳に影響を及ぼす．3）E7 と E1a による形質転換機構は同一ではない．

E. ヒト胎盤形成及び癌化とゲノムインプリンティングに関する研究（有馬隆博，和氣徳夫）

a. 胎盤の発生・分化に関与するインプリント遺伝子の検索

初期発生段階で大きく発現変化を示す遺伝子群を対象とし，その中から胎盤の発生に深く関与する遺伝子群を同定することを目的とする．対立遺伝子の双方が父親に由来する胞状奇胎と，父親及び母親の両方に由来する正常妊娠絨毛の間でメチル化パターンの違いを示す．遺伝子の単離を RLGS 法（Restriction landmark genome scanning）を用いて行う．両組織間で発生に差を示す遺伝子群は DNA メチレーションに伴うゲノムインプリンティングによる発現制御を受ける標的遺伝子群と考えられるためである．

b. ヒト絨毛細胞における IGF2-H19 遺伝子の発現制御機構の解析と癌化への関与

ヒト正常組織でインプリンティングを受ける遺伝子として，父親由来ゲノムを選択的に発現する IGF2 遺伝子，逆に母親由来ゲノムを選択的に発現する H19 遺伝子が知られている．IGF2 及び H19 遺伝子は共通のエンハンサーを有し，各々逆の発現パターンを示す．（Enhancer Competition Model Bartolomei et al. 1994）．

我々の研究結果より，妊娠初期絨毛においては IGF2-H19 遺伝子の両側アレルよりの発現が示された．この初期絨毛の IGF2-H19 発現の制御機構を今後解析する．また，父親由来ゲノムの選択的継承を特徴とする胞状奇胎においても H19 遺伝子の発現を認め，母親由来アレルの選択的発現に一致しなかった．絨毛癌細胞ではインプリンティングの消失が高頻度（約 80%）に観察され，ほとんどの絨毛癌で H19 遺伝子の発現量は亢進し，IGF2 遺伝子の発現は抑制されていた．したがって，H19 遺伝子は絨毛細胞の増殖因子となり得ることが示唆される．このため絨毛細胞における H19 機能の解明，H19 発現の亢進と絨毛癌化との関連について解析中である．

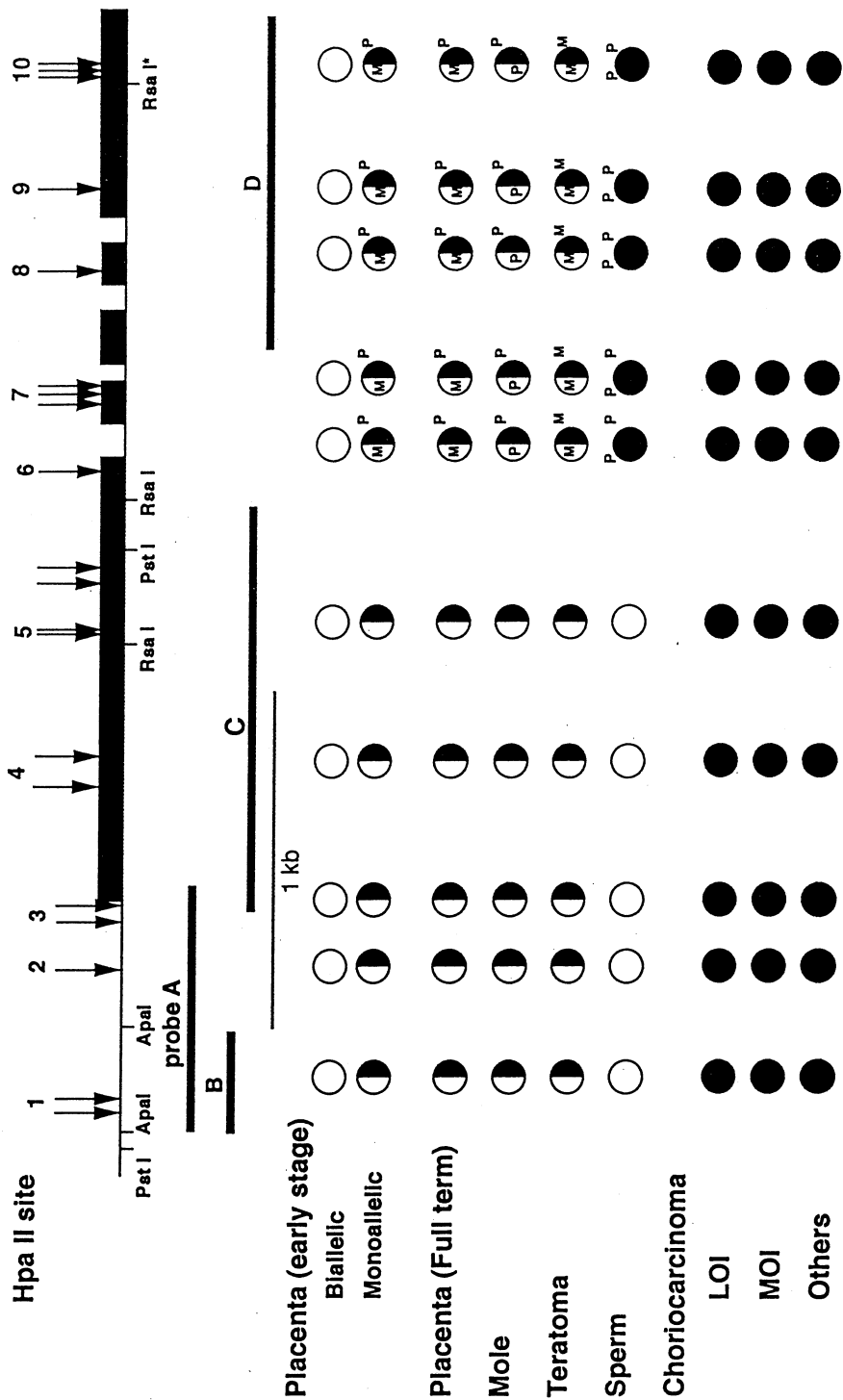


図 E H19 遺伝子のメチル化の解析

F. レトロウイルスベクターを用いた子宮内膜癌、頸癌細胞株への p53 及び HPV E7 アンチセンスの導入による細胞増殖抑制効果（儀間朝直，西田純一，鹿沼達哉，加藤秀則，和氣徳夫）

レトロウイルスベクターを用いた癌遺伝子治療の可能性について検討する目的で，子宮内膜癌及び頸癌細胞株にそれぞれ野生型 p53 及び HPV E6，E7 に対するアンチセンスを導入し，その殺細胞効果を検討している．〔方法〕1) クローニングサイト上流に CMV の promotor を有するベクター（LNCX）に野生型 p53 cDNA，HPV16 型 E6 及び E7 に対する full length のアンチセンスを導入した．2) 感染細胞におけるプロウイルスの構造及び発現はサザンブロット，ノーザンブロットによって確認した．3) ウイルス産生細胞の培養上清を子宮内膜癌細胞株（HHUA，Ishikawa）あるいは子宮頸癌細胞株 SiHa（HPV16 型陽性）に添加し，5 日目の生細胞数をコントロール群と比較検討した．〔成績〕1) 野生型 p53 及び HPV E6，E7 アンチセンスを発現する比較的感染効率の高い（対 HeLa 当たり $0.8 \sim 1.0 \times 10^5$ cfu/ml）パッケージング細胞（PA317）を得た．感染細胞での発現も確認された．2) 野生型 p53 を導入した HHUA，Ishikawa 株の生細胞数は感染効率で補正するとコントロール群（Mock）と比較し，それぞれ 44%，60% であった．3) E7 アンチセンスを導入した SiHa 株の生細胞数はコントロール群の 80% であった．E6 アンチセンス導入群はコントロール群と比較し，有為な差を認めなかった．〔結論〕1) 野生型 p53 単独導入による子宮内膜癌殺細胞効果は比較的強くさらに感染効率を上げるための工夫及び DNA damaging agent との併用の必要性が示唆された．2) HPV E7 アンチセンス RNA をレトロウイルスベクターで導入することによる子宮頸癌の遺伝子治療の可能性が示唆された．

G. 胎盤形成及び絨毛癌造腫瘍性抑制に関わる ERV3 遺伝子領域の関与（松田貴雄，有馬隆博，和氣徳夫）

絨毛癌化抑制に関して ERV-3 及びその近傍領域の絨毛癌への関与を検討した．ERV-3（ヒト内因性レトロウイルス 3）は，7p12 から q11 に存在し，絨毛癌で発現が低下する．

絨毛，胎盤，奇胎，絨毛癌は組織より DNA 及び RNA を抽出し，他の組織は，市販のフィルターを用いた．絨毛癌細胞株 8 株（CC1，CC2，CC3，BeWo，JAR，JEG3，NJG，NUC-1），他の癌細胞株 7 株（PA-1，ITO-II，HHUA，IK，Hec-1，SNGM，SiHa）を用いた．CC1 にヒト 7 番染色体単一移入した株（CC1#7）は造腫瘍性が著しく低下した細胞株である．

絨毛，胎盤，奇胎で高度に 9.0，7.3，3.5 kb の ERV-3 遺伝子が発現していた．他の正常組織はわずかだが，心，脳，脾で発現が認められた．絨毛癌細胞株は全てで 7.3，9.0 kb は消失，3.5 kb は 7 株中 3 株で消失していた．ERV3 及び H-plk 遺伝子の欠失によるものではないことも確認された．CC1#7 では 3.5 kb のみが回復した．7p12 から q11 の ERV3 領域をカバーする STS マーカーにて検索を行った．PCR にて増幅のない領域が存在し，homozygous deletion と考えられ

る領域が存在した。D7S520, 663, 502のいずれかに増幅のないものが8例中7例に存在し、この領域と造腫瘍性との関連が推察された。他の癌細胞株でも高率にこの領域に欠失を認めた。

このことから、7番染色体導入にてERV-3遺伝子3.5kbのみが回復し、造腫瘍性との関与が示唆され、D7S520, 663, 502近傍の欠失が造腫瘍性抑制の消失に関与していると考えられる。

H. 卵巣癌細胞における ras 遺伝子の変異と増殖シグナルとの関連（上岡陽亮，加藤聖子，八谷俊朗，鹿沼達哉，西田純一，和氣徳夫）

細胞増殖シグナルは、受容体さらには Ras 蛋白を介して核内に伝達され、癌の増殖・進展に関与する。本研究では樹立された卵巣癌細胞株10株を対象として各種増殖因子レセプターおよびエストロゲンレセプター（ER）の発現と増殖因子に対する細胞反応性、また ras 遺伝子変異を以下の方法で検討している。

1) 3種類の増殖因子レセプター（c-erbB2-R, EGF-R, HGF-R）蛋白の発現を、ウエスタンブロット、免疫沈降法および免疫組織染色法を用いて解析している。2) ER 蛋白の発現をウエスタンブロットを用いて検索している。3) 増殖因子（EGF, HGF）細胞増殖と細胞運動性に及ぼす影響を検討している。4) ras 遺伝子の変異をドットプロット法で解析している。

I. 卵巣癌における p16遺伝子異常と関連蛋白の相関について（鹿沼達哉，西田純一，儀間朝直，和氣徳夫）

卵巣癌における p16遺伝子の異常を検討し、同時に卵巣癌細胞株を用いて関連蛋白質との相関について検討した。

子宮頸癌株6種，子宮内膜癌株3種，卵巣癌株11種，卵巣癌臨床検体30例を対象とした。

表Iに原発性卵巣癌における p16遺伝子の異常を示した。30例中5例16.7%に両側アレルの欠失が認められ，4例13.3%に missence mutation および one base deletion が認められ，原発性卵巣癌の30%に p16遺伝子異常が関与していることがわかった。

卵巣癌細胞株11例において，p16および p15遺伝子についてそれぞれの特異的プローブを用い Southern blot を行った（図I.1）。p16遺伝子は，3株に両側アレルの欠失が認められた。P15遺伝子の構造異常は認められなかった。

下段は p16および p15遺伝子の発現を RT-PCR 法で見たものである。p16遺伝子は，gene の欠失している3つの細胞株の他に KK 株で発現が認められなかった。KK 株の p16遺伝子の5'CpG 領域のメチレーションは認められず，報告されている転写制御とはことなる可能性が示唆された。P15遺伝子は，SKOV, RMG-1の2株で発現が認められなかった。

SSCP にて MCAS にのみバンドシフトが認められた。MCAS 株においては両側アレルとも p16遺伝子に変異していることが確認された。

図I.2は，卵巣癌細胞株における p16から Rb までの関連蛋白の Western Blot による解析

結果を示した9株に p16と Rb の発現パターンに逆相関が認められた。p16, Rb とも detect された2株は cyclinD の過剰発現が示唆された。そのうち KF に cdk4 の過剰発現の傾向が認められた。これら2つの細胞株においては更に検索を進める必要があるものと考えられた。

以上の結果をまとめると、卵巣癌細胞株では、p16-cyclinD/cdk4-Rb 系の異常箇所により、相補的な3群に分類することが可能と考えられる。第1群は p16 の異常によりこの経路の機能が消失している群、第2群は Rb の異常による群、第3群は p16 および Rb は intact に保たれているが、cyclinD あるいは cdk4 に異常がある群である。したがって、p16-cyclinD/cdk4-Rb 系による G1-S エントリー制御の機能異常が卵巣癌の癌化機構に深く関わっていることが示唆された。

表 I Clinical Characteristics of Patients and p16 Gene Alterations in Primary Ovarian Cancer

Case	Age	Histology	Clinical Stage	Genomic PCR (Deletion)	RT-PCR	Sequence
1	71	serous	3C			
2	76	endometrioid	3C			
3	59	mucinous	1A			
4	55	mucinous	4			
5	50	teratocarcinoma	3C	Exon 2	not amplified	
6	45	endometrioid	1A			
7	61	serous	1A			
8	64	teratocarcinoma	2C	Exon 2	not amplified	
9	44	serous	4			
10	69	serous	3C			Codon 92 ; Ala→Pro
11	39	serous	3C			
12	31	mucinous	1A			
13	23	yolk sac tumor	1A	Exon 2	not amplified	
14	56	serous	2C	Exon 2	not amplified	
15	67	serous	4			
16	45	clear cell	1C			
17	51	serous	4			
18	53	mucinous	2C	Exon 2	not amplified	
19	61	serous	3C			
20	72	mucinous	1A			
21	22	serous	1A			Codon 56 ; Leu→Pro, Codon 57; one base deletion
22	37	endometrioid	1A			
23	45	undifferentiated	3C			Codon 132 ; Ser→Cys, Codon 139 ; Pro→Leu
24	49	serous	3C			
25	59	endometrioid	3C			
26	72	endometrioid	1A			
27	55	mucinous	1C			
28	58	serous	2C			Codon 35 ; Ser→Arg
29	72	mucinous	1C			
30	62	serous	3C			

serous : serous cystadenocarcinoma, mucinous : mucinous cystadenocarcinoma, endometrioid : endometrioid adenocarcinoma, clear cell : clear cell adenocarcinoma, undifferentiated : undifferentiated adenocarcinoma.

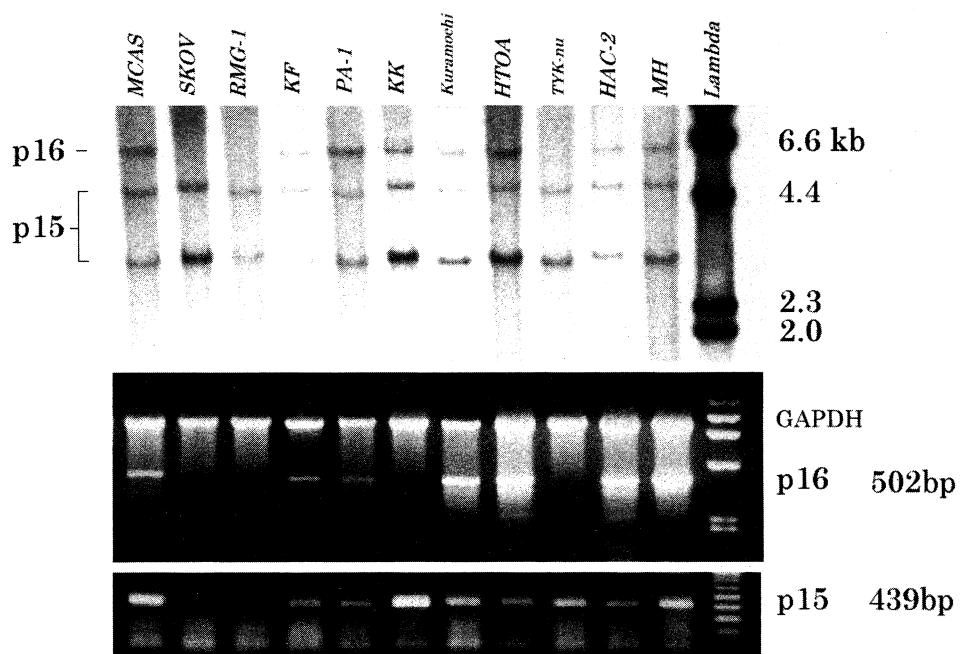


图 I. 1 Southern Blot Analysis of p16 and p15 Genes in Human Ovarian Cancer Cell Lines

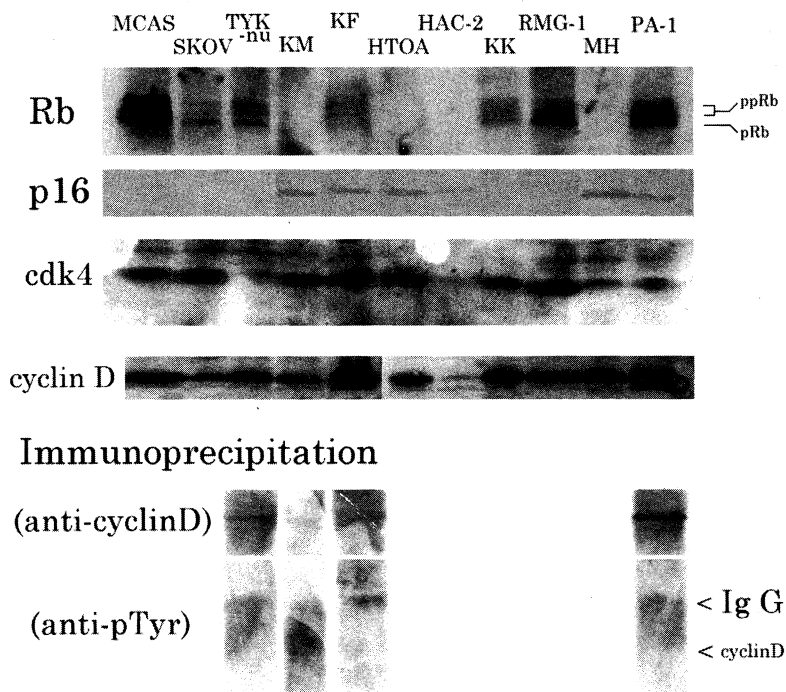


图 I. 2 Western Blot Analysis

J. 子宮体癌における WAF1遺伝子の解析 (八谷俊朗, 加藤聖子, 上岡陽亮, 和氣徳夫)

子宮体癌での p53異常の頻度は約10%と低い, WAF1は p53により制御されることから癌化過程で WAF1に生ずる変化は 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. そこで, 子宮体癌における WAF1遺伝子の異常について解析を行った.

原発性子宮体癌の54症例及び細胞株 3 株を対象とし, PCR-cycle sequencing 法にて WAF1遺伝子の塩基配列を決定した. コントロール群として, 正常人血液55例より genomic DNA を抽出し, PCR で増幅後, 多型の報告があるコドン31に関し dot blot hybridization を行った. また Arg 多型の機能を解析するために retrovirus vector を用い細胞増殖能及び細胞周期を検討する.

WAF1遺伝子 codon31で Ser (AGC) から Arg (AGA) への変換を41例 (76%) に認めたが, 他の点突然変異は見られなかった. Arg 置換は正常組織との結果と一致していた為, 多型と考えられた. 一方, コントロール群では Arg 多型を22例 (40%) に認めた, 子宮体癌患者の Arg 多型の頻度は一般集団に比して有意に高値であった. Arg 多型は stage III, IV, 50才以上の子宮体癌で有意に多く, また分化度の低い腺癌に多い傾向であった. 子宮体癌の risk factor との関係は未産婦, 高血圧では有意に, また閉経後, 肥満, 重複癌, 癌の家族歴では有意差は無いが, Arg 多型が多い傾向があった.

K. 絨毛癌におけるエストロゲンレセプターの発現とその制御機構についての研究

(清水 篤, 有馬隆博, 松田貴雄, 和氣徳夫)

エストロゲンレセプター (ER) の構造的, 機能的変化が子宮内膜癌, 乳癌などに, 関与していることが知られている. そこでエストロゲンによる制御をうけるヒト正常絨毛, 胎盤組織およびそれらに由来する全胎状奇胎, 絨毛癌において ER 遺伝子の発現を検討した. 結果ヒト正常絨毛, 胎盤組織, 奇胎組織で ER mRNA の発現を認めたが絨毛癌ではその発現を認めず, ER 蛋白も同様であった. 発現調節機能を解析するため, サザンブロット法にて ER の CpG island を示すプロモーター領域のメチル化について検討した. ER プロモーター領域は, 絨毛, 胎盤, 胎状奇胎組織で両側アリルとも低メチル化状態であり, 絨毛癌では両側アリルともに高メチル化状態であった. ER プロモーター領域の DNA メチル化と ER の発現とは相関がみられ, 絨毛癌化に伴い, ER プロモーター領域のメチル化が生じ ER 発現が抑制されたものと考えられた. 絨毛癌細胞における ER の機能を明らかにするため, 絨毛癌細胞株に ER cDNA 遺伝子を導入し, クローンを選択した. 今後細胞特性について解析を行う.

原著論文

1. Oda, S., Nishida, J., Nakabeppu, Y. and Sekiguchi, M.

ΔFosB-mediated Stabilization of Cyclin E and Cdk2 mRNAs at the G1-S Transition in Rat-1A Emerged from G0 State.

- Oncogene., 10 1995.
2. Dongchon,Kang., Nishida,J., Iyama,A., Nakabeppu,Y., Furuichi,M., Fujiwara,T., Sekiguchi,M and Takeshige,K.
Intracellular Localization of 8-Oxo-dGTPase in Human Cells, with Special Reference to the Role of Enzyme in Mitochondria.
Journal of Biological Chemistry., 270, 24, 14659-14665, 1995.
 3. Kakuma,T., Nishida,J., Tsuzuki,T and Sekiguti,M.
Mouse MTH1 Protein with 8-Oxo-dGTPase Activity That Prevents Transversion Mutations : cDNA CLONING AND TISSUE DISTRIBUTION.
Journal of Biological Chemstry, 270, 43, 25942-25948, 1995.
 4. Yamada,H., Sasaki,M., Honda,T., Wake,N., Boyd,J., Oshimura M and Barrett J, C.
Suppression of endmetraial carcinoma cell tumorigenicity by human chromosome 18.
Genes, Chromosomes and Cancer, 13, 18-24, 1995.
 5. Hachiya,T., Nakano,H., Wake,N and Sueishi,K.
In vitro invasiveness of human breast cancer cells through plasminogen activator activity independently regulated by hormones and transforming growth factor- β .
The Cancer Journal., 8, 1, 1-2, 1995.
 6. Miwa,K., Miyamoto,S., Kato,H., Imamura,T., Nishida,M., Nagata,Y., and Wake, N.
The role of p53 inactivation in human cervical cell carcinoma development.
British J. Cancer., 71, 219-226, 1995.
 7. Arima,T., Imamura,T., Sakuragi,N., Higashi,M., Kamura,T., Fujimoto,S., Nakano,H and Wake,N.
Malignant trophoblastic neoplasms with different modes of origin.
Cancer Genet Cytogenet., 85, 5-15, 1995.
 8. Nishida,M., Miyamoto,S., Kato,H., Miwa,T., Imamura,T., Miwa,K., Yasumoto,S., Barrett,J,C., and Wake,N.
Transcriptional Repression of Smooth Muscle α -Actin Gene Associated with Human Papillomavirus Type 16 E7 Expression.
Molecular Carcinogenesis., 13, 157-165, 1995.
 9. Kohno,K., M,K,Danks., Matsuda,T., J,L, Nitiss., Kuwano,M and W,T,Beek.
A novel mutation of DNA topoisomerase II a gene in an etoposide-resistant human cancer cell line.
Cell. pharmacol., 2, 87-90, 1995.
 10. Kato,K and Wake,N.

The level of ER protein expression is increased in NIH3T3 cell transformed by oncogenic K-Ras 4B: Sex Steroid Hormone Action In in vitro culture system.

Churchill Living stone (Japan) in press.

11. 西田 眞, 加藤聖子, 今村利朗, 和氣徳夫.

MD/MS 法及び血中オステオカルシン, 酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ測定による骨粗鬆症のスクリーニングに関する検討.

診療と新薬, 32, (12) 1-5, 1995.

総 説

1. 八谷俊朗, 今村利朗, 和氣徳夫.

遺伝子治療の試み及び将来像.

産科と婦人科, 62, 6, 1995.

2. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫.

絨毛性疾患の DNA 解析.

病理と臨床, Vol.13, 1995.

3. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫.

絨毛癌とゲノムインプリンティング.

病理と臨床, Vol.14, 1995.

4. 有馬隆博.

子宮内膜症—Controversy'96.

臨床婦人科産科, 50, 1, 1995.

5. 村瀬隆之, 今村利朗, 有馬隆博, 和氣徳夫.

癌と遺伝子の話題.

産婦人科の実際, Vol.44, 1995.

6. 今村利朗, 有馬隆博, 和氣徳夫.

癌遺伝子を標的とした化学分子の癌治療への応用.

産婦人科治療, 70, 82-86, 1995.

7. 今村利朗, 和氣徳夫.

子宮体癌の診断と治療—遺伝子治療.

今月の治療 (1995) 1995.

8. 今村利朗.

高機能型アンチセンスオリゴ DNA による子宮頸癌細胞株の増殖抑制効果.

臨床薬理の進歩, 16, 148-154, 1995.

9. 今村利朗, 有馬隆博, 西田 眞, 村瀬隆之, 八谷俊朗, 村上 章, 和氣徳夫.

アンチセンスオリゴ DNA による子宮頸癌細胞の増殖抑制効果.

ONCOLOGY & CHEMOTHERAPY, 11, 2, 109-114, 1995.

10. 加藤聖子, 和氣徳夫.

遺伝子導入療法.

臨床婦人科産科, 49, 868-870, 1995.

著 書

1. 西田純一, 和氣徳夫. 1995.

癌(抑制)遺伝子.

図説産婦人科 View 腫瘍マーカー, 208-213, メディカルビュー社.

2. 西田純一, 和氣徳夫. 1995.

発癌機序はどこまでわかったか.

癌診療 Q and A.

学会発表

1. 松田貴雄, 有馬隆博, 西田 眞, 西田純一, 吉河康二, 和氣徳夫 (1995, 1/20).

子宮頸部未分化癌の一例.

第4回大分婦人科悪性腫瘍研究会, 大分.

2. Toshiro Imamura (Feb. 10, 1995).

[INVITED SPEAKER] "Antisense oligonucleotides targeted to activated oncogene"

The 9th Yousong Cancer Symposium, Taejon Korea.

3. 有馬隆博 (1995, 2).

絨毛癌発生起源の PCR 多型解析.

大分県医師会学会, 大分.

4. 有馬隆博 (1995, 4/6).

子宮内膜症と不妊.

平成7年度 日産婦・日母別府地区総会, 別府.

5. 加藤聖子, 加藤圭次, 西田 眞, 坂本隆子, 和氣徳夫 (1995, 4/24-25).

子宮内膜癌細胞株に対するアザチロシンの効果とその作用機序.

第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 名古屋.

6. 西田純一, 儀間朝直, 鹿沼達哉, 和氣徳夫 (1995, 4/24-25).

ラット線維芽細胞のトランスフォーメーションにおける HPVE7 の役割.

第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 名古屋.

7. 坂本隆子, 加藤聖子, 西田 眞, 和氣徳夫 (1995, 4/24-25).

- 子宮内膜癌細胞株とエストロゲン，EGF との関連。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
8. 儀間朝直，西田純一，鹿沼達哉，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
子宮体癌発生へのヒト22番染色体の関与。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
9. 松田貴雄，有馬隆博，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
ヒト7番染色体の絨毛癌抑制遺伝子の単離。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
10. 鹿沼達哉，西田純一，儀間朝直，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
婦人科領域の各種癌細胞，特に卵巣癌における p16遺伝子の欠失について。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
11. 有馬隆博，松田貴雄，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
ヒト胎盤，胞状奇胎組織及び絨毛癌におけるゲノムインプリティングの関与について。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
12. 村瀬隆之，今村利朗，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
子宮体癌におけるマイクロサテライトの遺伝子不安定性。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
13. 今村利朗，西田 眞，村上 章，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
アンチセンスオリゴDNA による子宮頸癌細胞の増殖抑制効果。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
14. 八谷俊朗，今村利朗，村瀬隆之，和氣徳夫（1995，4/24-25）。
ヒト子宮体癌における Sdi1遺伝子の解析。
第47回日本産科婦人科学会総会学術講演会，名古屋。
15. 八谷俊朗，今村利朗，村瀬隆之，和氣徳夫（1995，5/21）。
子宮体癌における Sdi1遺伝子の解析。
第45回日本産科婦人科学会九州連合地方部会学術講演会，熊本。
16. 松田貴雄，有馬隆博，和氣徳夫（1995，6/7）。
ヒト7番染色体 ERV3領域と絨毛癌抑制遺伝子の関連について。
第13回絨毛疾患研究会，広島。
17. 有馬隆博，松田貴雄，和氣徳夫（1995，6/7）。
胎盤発生過程におけるゲノムインプリティングの関与について。
第13回絨毛疾患研究会，広島。
18. 八谷俊朗，和氣徳夫（1995，7/2）。
当科中高年期外来における乳房検診の現況。

- 第45回日本産科婦人科学会大分地方部会学術講演会，大分。
19. Vojta,P.V., Kato,H and Barrett,J.C., (1995, 9/28).
Construction of STF Clones Representing Distal region on Human Chromosome 1q.
Chromosome Mapping Meeting, Viena, Austria.
20. 八谷俊朗，今村利朗，村瀬隆之，和氣徳夫 (1995, 10/3-5).
子宮体癌における WAF1遺伝子の解析.
第54回日本癌学会，京都。
21. 加藤聖子，和氣徳夫 (1995, 11/19-22).
Cross talk in signal transduction pathway between p21 and sex steroid hormones.
日本組織培養学会国際シンポジウム，東京。
22. 有馬隆博，今村利朗，松田貴雄，和氣徳夫 (1995, 11/11).
絨毛癌発生起源の分子生物学的検討.
九州婦人科がん懇話会，福岡。
23. 上岡陽亮，加藤聖子，西田純一，八谷俊朗，和氣徳夫 (1995, 11/11).
EMACO 大量療法にて良好な経過をたどった PSTT の一症例.
九州婦人科がん懇話会，福岡。
24. 加藤秀則，和氣徳夫 (1995, 12/1).
アンチセンスオリゴ DNA の癌治療への応用及びその高機能化.
第15回がん集学的治療研究財団研究発表会，東京。