

## 22-8 卵巣癌培養細胞株における転写因子 GATA-4/5/6の発現とメチル化の検討

東京医歯大生殖機能協関学<sup>1</sup>, 東京医歯大分子腫瘍医学<sup>2</sup>  
若菜公雄<sup>1</sup>, 久保田俊郎<sup>1</sup>, 湯浅保仁<sup>2</sup>, 麻生武志<sup>1</sup>

【目的】近年、転写因子の発現異常と発癌との関連が注目されている。卵巣癌においても、発生、分化に関与する転写因子である GATA-4 蛋白の発現異常が報告されたが、そのメカニズムは不明である。上皮性卵巣癌の発生に於いて卵巣表層上皮の分化異常が関連している可能性を検討する目的で、卵巣癌細胞株における GATA 遺伝子の発現を解析した。【方法】ヒト卵巣癌細胞株8例 (RMUG-S, RMUG-L, MCAS, OMC-3, RMG-1, JHOC-5, HTOA, JHOS-3) を用い、RNA を抽出し、RT-PCR 法により GATA-4/5/6 の mRNA 発現レベルを解析した。また、メチル化との関連を見るため、脱メチル化剤である 5-Azadeoxycytidine (5-Aza-dC) を培養細胞に72時間処理し、同様に発現レベルを解析した。【成績】(1) GATA-4 発現は2例、GATA-5 発現は2例、GATA-6 発現は8例全ての細胞株で認められた。その他の細胞では、発現がないか弱かった。(2) 発現がない、または弱かった GATA-4/5 の6例について 5-Aza-dC 処理後の発現を検討し、GATA-4 では4例、GATA-5 では2例に発現の回復を認めた。【結論】GATA-4/5 遺伝子の発現には DNA メチル化が関与しており、これら GATA の発現異常は卵巣癌の発生に関与している可能性が示唆された。

## 22-9 siRNA を用いた卵巣癌細胞における転写因子 Ets-1 の選択的制御による運動能の抑制

札幌医大

芥川典之, 西川 鑑, 岩崎雅宏, 藤本 尚, 寺本瑞絵, 永井美帆, 高橋 円, 工藤隆一

【目的】癌細胞の産生するマトリックス分解酵素や細胞接着因子は癌細胞の運動と浸潤に関わり癌の進展に重要な特性と考えられる。転写因子 Ets-1 はこれらの分子の転写調節機能を有し癌の転移・浸潤に関与している。我々は近年脚光を浴びている遺伝子の選択的発現制御が可能な siRNA を用い、Ets-1 の抑制により卵巣癌細胞の運動能、浸潤能の制御を試みたので報告する。【方法】ヒト未分化卵巣癌由来細胞株である HTBOA を実験に用いた。ターゲットである Ets-1 のスタートコドンに 21mer の siRNA を合成した。Ets-1 siRNA を HTBOA に導入し、HTBOA/Ets-1 siRNA と Ets-1 のオリゴヌクレオチドを導入したコントロールを作成した。これらの細胞での Ets-1 蛋白の発現を Western blot で、uPA mRNA, integrin $\alpha$ V,  $\beta$ 3 mRNA の発現を RT-PCR により解析した。また細胞の運動能は wound healing assay により解析した。【成績】HTBOA/Ets-1 siRNA はコントロールに比して著しく Ets-1 蛋白の発現が低下した。転写調節領域に ets 結合部位を有する uPA, integrin $\alpha$ V,  $\beta$ 3 の発現は HTBOA/Ets-1 siRNA で強く抑制された。この細胞は wound healing assay においてコントロールと比較して運動能が抑制された。【結論】卵巣癌細胞に Ets-1 siRNA を導入する事により Ets-1 蛋白発現を抑制できた。これにより各種マトリックス分解酵素や細胞接着因子の抑制を通して卵巣癌の進展を抑制できることが示唆された。

## 22-10 卵巣癌腹膜播種に対する先進治療戦略

岐阜大学

豊木 廣, 藤本次良, 中川由美子, 佐藤英理子, 玉舎輝彦

【目的】卵巣癌における腹膜播種症例の予後は悪く、このような症例に対する血管新生抑制療法の新しい戦略を開発する。【方法】組織の採取および研究内容に関するインフォームド・コンセントをすべての患者から得た。血管新生転写因子 ETS-1 の遺伝子の発現は recombinant RNA を用いた competitive RT-PCR で、ETS-1 の局在およびタンパク発現量は免疫組織化学染色で検討した。また、臨床予後はカプラン・マイヤー法にて解析した。【成績】卵巣癌原発巣において ETS-1 は進行とともに増加し、高発現群では予後は悪かった。また腹膜播種巣で原発巣に比して高発現になる症例が30例中20例で、高発現になる症例の予後は非常に悪かった。【結論】これまで卵巣癌とくに腹膜播種巣に発現している血管新生因子のうち、予後と高く相関するのは VEGF であったが、ETS-1 も同様であることがわかった。したがって単一の血管新生因子のみの抑制でなく血管新生の転写も抑制すれば、より効率のよい血管新生抑制療法が可能になると考えられた。