

P2-56-5 Lipocalin2 は卵巣明細胞腺癌細胞の遊走・浸潤を刺激し、酸化ストレス耐性を高める信州大¹, 飯田市立病院²山田 靖¹, 宮本 強¹, 小原久典¹, 安藤大史¹, 石川香織¹, 鈴木昭久², 塩沢丹里¹

【目的】Lipocalin2 (LCN2) は鉄イオン運搬機能や matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) との結合が知られ、細胞の遊走・浸潤・増殖等に関与することが報告されている。我々はこれまでに LCN2 高発現が卵巣の子宮内膜症性嚢胞や、関連卵巣癌である明細胞腺癌、類内膜腺癌で観察され、これらの卵巣癌の予後不良因子となることを報告した。今回我々は、卵巣明細胞腺癌細胞株を用いて LCN2 機能解析を行った。【方法】LCN2 低発現卵巣明細胞腺癌細胞株である ES2 と Tov21G を用いた。遺伝子導入により LCN2 高発現 ES2 (ES2-LCN2) を作成し、増殖能、遊走能、浸潤能、MMP-9 活性を WST-1 assay, Scratch assay, Matrigel invasion assay, Gelatin zymography で評価した。また H₂O₂ 添加下での WST-1 assay で酸化ストレス耐性を評価した。また Tov21G に recombinant LCN2 (rLCN2) を添加して同様の実験を施行した。【成績】ES2-LCN2 では増殖能に差を認めなかったが、遊走能亢進 ($P=0.03$), 浸潤能亢進 ($P<0.001$), MMP-9 活性 34% 増強, H₂O₂ 耐性増強 ($P<0.001$) を認めた。Tov21G も rLCN2 添加により、遊走能亢進 ($P=0.002$), 浸潤能亢進 ($P<0.001$), MMP-9 活性 55% 増強, H₂O₂ 耐性増強 ($P<0.001$) が観察された。【結論】LCN2 は、卵巣明細胞腺癌において遊走能、浸潤能亢進といった悪性度上昇や、細胞の生存能力上昇に作用していることが示唆された。

P2-56-6 卵巣明細胞腺癌における酸化ストレス回避機構に関する検討岐阜大¹, 大分大², 関西労災病院³, 久留米大⁴, 静岡がんセンター⁵, 名古屋市立大⁶, 県立奈良病院⁷水野智子¹, 森美奈子¹, 牧野 弘¹, 古井辰郎¹, 伊藤直樹¹, 矢野光剛², 伊藤公彦³, 西尾 真⁴, 久慈志保⁵, 荒川敦志⁶, 井谷嘉男⁷, 森重健一郎¹

【目的】ALDH1 は卵巣癌幹細胞 (CSC) マーカーのひとつとされている。CSC 様細胞では活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) が低く保たれており、それが化学療法抵抗性に関与しているひとつとされている。今回、卵巣癌における ALDH の臨床的意義を検討し、さらに CSC 様細胞における ROS を低下させるメカニズムとして Nrf2-抗酸化酵素システムの関与について検討した。【方法】インフォームドコンセントをとられた卵巣明細胞腺癌組織の臨床検体について ALDH1 にて免疫染色を行い、進行度と各々の検体における発現率の関係について検討した。また、フローサイトメトリーを使用して卵巣明細胞腺癌細胞株 KOC-7C を ALDH1 高発現細胞と低発現細胞に分けて sorting した。各々の群において ROS の発現強度を比較し、抗酸化酵素である SOD2, HO-1, およびそれらの転写因子である Nrf2 の mRNA 発現を比較検討した。【成績】組織免疫染色では明細胞腺癌 1.2 期 ($n=27$): 4%, 3.4 期 ($n=55$): 22% であり、進行期の方が ALDH1 陽性細胞の比率が高かった。また、全体の 10% 以上が陽性細胞となった場合を強陽性としたとき、1.2 期: 11%, 3.4 期: 47% と進行期ほど強陽性となる傾向にあった。ALDH1 高発現細胞では低発現細胞よりも ROS が低く、SOD2 および HO-1 が高い傾向にあった。また、Nrf2 の発現も ALDH 高発現細胞において高い傾向にあった。【結論】化学療法抵抗性の卵巣明細胞腺癌では、進行期ほど ALDH1 陽性率が高く癌幹細胞様細胞を多く含んでいると考えられた。これらの集団では酸化ストレス回避機構を確立することで、化学療法抵抗性を高めている可能性が示唆された。

P2-56-7 卵巣明細胞腺癌に対する細胞周期チェックポイント阻害剤を用いた至適併用化学療法の探索

鳥取大

佐藤慎也, 板持広明, 工藤明子, 佐藤誠也, 浪花 潤, 島田宗昭, 大石徹郎, 原田 省

【目的】卵巣明細胞腺癌 (CCC) の抗がん剤耐性に、低い細胞増殖能が関与することを明らかにした。本研究は、細胞増殖に関与する細胞周期チェックポイント阻害剤と抗がん剤の併用療法の有効性を明らかにしようとした。【方法】CCC 由来細胞株 4 株を用いて、シスプラチン (CDDP), パクリタキセル (PTX) およびイリノテカンの活性体である SN-38 に対する感受性を WST-8 assay により検討した。Chk1/Chk2 の阻害剤である AZD7762 と抗がん剤との併用効果を Median effect 法にて検索した。薬剤添加後の細胞周期の変化およびアポトーシスを flow cytometry で検討するとともに、細胞周期チェックポイントおよびアポトーシス関連蛋白の発現を western blot 法で検索した。DNA 損傷は p-H2A.X の蛍光免疫組織化学で検討した。次に、RMG-I をヌードマウス背部皮下に注入して明細胞腺癌皮下移植モデルを作成し、薬剤を腹腔内投与して治療効果を比較検討した。【成績】AZD7762 と抗がん剤との併用効果の検討では、CDDP で 4 株中全てに、SN-38 で 2 株に相乗作用が得られたものの、PTX では全ての株で相加作用にとどまった。AZD7762 と CDDP との併用では、p-Chk1/2 蛋白発現の抑制と Cdc25A/C 蛋白発現の増加が観察されるとともに、G1/S 期細胞比率の減少がみられた。また、AZD7762 と CDDP との併用により、p-H2A.X 蛋白は核内で著明に増加するとともに、Cleaved Caspase9 および PARP 蛋白発現が増加し、著明なアポトーシスが誘導された。明細胞腺癌皮下移植モデルにおいて、AZD7762 と CDDP との併用療法群の移植腫瘍の増殖は無投与対照群および単剤投与群に比して有意に抑制された。【結論】CCC に対する AZD7762 と CDDP との併用療法の有効性が示唆された。