

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域婦人科腫瘍学教育研究分野 大澤有姫
<p>(論文題目)</p> <p><b>Decreased expression of carbonyl reductase 1 promotes ovarian cancer growth and proliferation</b> (Carbonyl reductase1 の発現低下は卵巣癌の増殖を促進する)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p><b>【緒言】</b> Carbonyl reductase1(CBR1)は NADPH 依存性のカルボニル還元酵素のひとつであり、その遺伝子は 21q22.13 に存在している。ヒトでは肝、皮膚、腎、胃・小腸上皮、卵巣、血管内皮などの各種臓器の細胞質に強く発現しているが生体内の詳細な役割は不明なところが多い。先行研究ではマウス卵巣癌細胞に対して CBR1 を強発現させると腫瘍を自然退縮させると報告されている。本研究では、CBR1 の発現程度がヒト卵巣癌にどのような影響を及ぼすか検証する。</p> <p><b>【方法】</b> 1) CBR1 の sense pDNA を遺伝子導入または CRB1 siRNA にてノックダウンした OVCAR-3 の細胞増殖能と浸潤能を検討した。遺伝子導入方法はエレクトロポレーション法を用いた。2) CBR1pDNA を遺伝子導入した OVCAR-3 をヌードマウス背部皮下に移植した群(CBR1 強発現群, n=5), CBR1pDNA の遺伝子導入皮下腫瘍に対し CBR1 siRNA を注入した群 (CBR1 ノックダウン群, n=5), wild type OVCAR-3 を移植し、遺伝子導入を行わなかった群 (コントロール群, n=5) を作成した。遺伝子導入方法はエレクトロポレーション法を用いて CBR1pDNA を導入し、リポフェクション法を用いて CBR1siRNA を導入した。皮下腫瘍移植後、腫瘍径が測定可能 (φ5mm 程度) となったところを Day0 とし、Day14 までの各群の腫瘍増殖を継時的に測定し検討した。CBR1siRNA の注入は Day0 と Day7 の 2 回行った。Day14 でマウスを安楽死させ、腫瘍の腹腔内への浸潤状態を確認後、腫瘍組織と肺を摘出し転移浸潤様式について検討した。転移浸潤に関する因子として vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C)・E-cadherin・matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) の発現程度を各群の腫瘍組織を用いてウエスタンブロット法にて検討した。</p> <p><b>【結果】</b> 1) CBR1pDNA の遺伝子導入細胞は wild type OVCAR-3 に比べ有意に細胞増殖が抑制され、CBR1 をノックダウンした細胞は他の 2 群に比較し有意に細胞増殖が亢進した。遺伝子導入後培養細胞では遺伝子導入後 24 時間で CBR1 をノックダウンした細胞のみが基底膜細胞コーティングメンブレンに対して浸潤能を示した。2) CBR1 ノックダウン群では他の 2 群に比べ腫瘍増殖が有意に亢進し腹腔内への浸潤も認めた。さらに、CBR1 ノックダウン群の肺転移巣 (7.0±2.0) は CBR1 強発現群とコントロール群 (0, 2.0±2.0) に比較し有意に増加していた。CBR1 強発現群では腫瘍増殖が有意に抑制され腹腔内浸潤や肺転移は認めなかった。また、転移・浸潤に関する因子として CBR1 強発現群では他の 2 群に比較して VEGF-C の減弱がみられた。CBR1 ノックダウン群では E-cadherin の減弱と MMP-9 の増強がみられた。</p> <p><b>【考察】</b> 腫瘍転移には血管新生因子である VEGF ファミリーが関与することが知られており、血行性とリンパ行性転移の両方に VEGF-C の発現が関与するとされている。また、癌の浸潤には病的な上皮間葉転換が必要であり、癌の浸潤関与因子として E-cadherin と MMP-9 が知られている。本研究では CBR1 を強発現させると VEGF-C の発現が減弱することで転移を抑制すると考えられた。さらに、CBR1 がノックダウンされた状態で</p>	

は VEGF-C の存在の下 E-cadherin の発現低下と MMP-9 の発現促進がおり、細胞浸潤が促進されると考えられた。

【結論】 CBR1 強発現は腫瘍増殖を抑制し、CBR1 の発現低下は腫瘍増殖及び浸潤転移を亢進させた。CBR1 は腫瘍制御に関与しており新たな分子標的治療の候補になり得ることが示唆された。

※1 乙の場合、○○領域○○教育研究分野にかえて、所属の○○講座を記入すること。

※2 論文題目が英文の場合は（ ）内に和訳を付記すること。