

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 氏名 小山文望恵
(論文題目) Morphological analysis of peritoneal dissemination of ovarian cancer based on levels of carbonyl reductase 1 expression (Carbonyl reductase 1 発現程度による卵巣癌腹膜播種の形態学的解析)	
(内容の要旨：) 【緒言】 Carbonyl reductase 1(CR1)は NADPH 依存性のカルボニル還元酵素の一つで，in vivo での先行研究ではヒト卵巣癌細胞に CR1 を強発現させると腫瘍増殖が抑制され，発現を低下させると腫瘍増殖及び浸潤転移が亢進すると報告されている．また，抗腫瘍効果の機序として CR1 がアポトーシスを誘導すると報告されている． そこで本研究では，人工ヒト腹膜組織を用いて CR1 の発現程度によってヒト卵巣癌細胞の動態がどのように変化するのか検討することを目的とした． 【方法】 リポフェクタミン法にて CR1-DNA を導入して強発現させた HRA 細胞（ヒト漿液性卵巣癌細胞），CR1-siRNA 導入によって発現を低下させた HRA 細胞，遺伝子導入を行わなかった HRA 細胞（コントロール）の 3 種類を人工ヒト腹膜組織に播種させ，癌性腹膜炎形成までの過程を 6, 24, 48, 72 時間後と経時的に観察した．また TUNEL 法，電子顕微鏡を用い，コントロール群，CR1-DNA 導入群，CR1-siRNA 群の人工腹膜組織上のアポトーシス細胞を比較した． また培養細胞を用いて，1) フローサイトメトリーでアポトーシス細胞の割合，2) Ki-67 陽性細胞数，3) ウェスタンブロット法で caspase-3 の発現強度を比較した． 【結果】 6 時間後では，コントロール群，CR1-DNA 導入群，CR1-siRNA 群いずれも癌細胞の中皮への接着には差を認めなかった．24 時間以降では中皮下に侵入した後の細胞増殖が，CR1-DNA 導入群では他の 2 群に比べて有意に抑制されていた．48 時間後では，CR1-siRNA 群で細胞増殖が有意に亢進しており，72 時間後では CR1-siRNA 群で癌細胞の間質への浸潤を認めた． TUNEL 法では，CR1-DNA 導入群で有意なアポトーシス細胞の増加を認め，電子顕微鏡でアポトーシス小体を確認された．培養細胞を用いたフローサイトメトリーでは，CR1-DNA 導入群でアポトーシス細胞の有意な増加が確認された．また，CR1-siRNA 群では Ki-67 陽性細胞が有意に発現していた．caspase-3 は CR1-DNA 導入群で発現が増加し CR1-siRNA 群では発現が低下していた． 【考察】 CR1 を強発現，発現低下させても卵巣癌細胞はいずれも中皮への接着には影響しなかったが，CR1 発現の程度は中皮下での増殖，浸潤に作用していた．すなわち，CR1 を強発現させると細胞増殖は抑制され，CR1 を発現低下させると細胞増殖は亢	

進され間質への浸潤も認めた．これは，先行研究のマウス *in vivo* の実験と同様の結果であった．また，TUNEL 法，電子顕微鏡の結果から CR1 の腫瘍抑制効果にはアポトーシスが関与していることが今回の結果から示唆された．また CR1 発現低下群では，Ki-67 陽性細胞が増加していたことより腫瘍増殖能の亢進も獲得していると考えられた．

【結論】

in vivo で証明されていた CR1 の発現程度による腫瘍増殖の差を，*in vitro* 組織モデルである人工ヒト腹膜組織でも同様の結果を得ることができた．CR1 は新たな卵巣癌治療戦略の標的分子になり得ることが示唆された．

- ※1 乙の場合，〇〇領域〇〇教育研究分野にかえて，所属の〇〇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。