

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、今村利朗、加藤聖子、有馬隆博、西田純一のスタッフのほかに、西田 眞、儀間朝直、松田貴雄、村瀬隆之（帝京大学）の各医員、八谷俊朗大学院生、鹿沼達哉助手（群馬大学）、坂本隆子助手（帝京大学）の計12名で教室を構成している。

人事異動

3月に帝京大学より村瀬隆之医員が、6月に群馬大学より鹿沼達哉助手が研究に参加するため当部門に加わった。4月に田村尚也医員が京都府立医科大学へ帰学した。

A. 子宮体癌における Ras 蛋白の役割およびステロイドホルモンとの関連について (加藤聖子, 和氣徳夫)

子宮体癌は婦人科領域悪性腫瘍の10%を占め近年増加傾向にある。その発生原因機構の詳細は不明である。従来の我々の研究により、約20%の体癌では K-ras 遺伝子の点突然変異が検出されることが判明している。癌遺伝子の中でも特に ras 遺伝子の関与が強く示唆され、その変異は癌化の重要なステップであると思われる。一方、プロゲステロン非存在下での高エストロゲン状態は子宮体癌発症のリスク因子とされて久しいが、この詳細な分子機構についてはまだ明らかにされていない。ras 蛋白は細胞内情報伝達に極めて重要な役割を果たしていることが知られている。このためプロゲステロン・エストロゲン等による細胞増殖或いは抑制のシグナルは Ras 蛋白の本来保有する機能を介して伝達されることも十分予想される。このため、これらの因子が子宮体癌の発生においてどのように関連しあっているかを解明することを、目的とした。Ras 蛋白は G 蛋白の1つであり、GTP 型が活性型、GDP 型が非活性型とされている。この2つの型への変化の過程には、GAP (GTP ase activating protein), Neurofibromin や GDS (GDP dissociation stimulator) などの調節因子が作用している。これら因子の発現やその結果としての Ras GTP 型、GDP 型の比率がエストロゲン、プロゲステロン付加により変化するかどうかを調べる。Ras 蛋白の機能発現においても1つ重要なのが、最近明らかにされてきた翻訳後修飾である。この修飾にはC末端のシスチンへのイソプレノイドの付加、蛋白分解、そしてメチル基の付加という3段階がある。我々の *in vitro* mutagenesis を用いて Ras 蛋白の機能を検討した結果からイソプレノイド基の付加がその癌化獲得の上で最も重要であり、この修飾により Ras 蛋白が形質膜へ移行することが示された。このためエストロゲンやプロゲ

ステロンの投与によりイソプレノイド基の修飾や細胞内での ras 蛋白の局在がどう変化するかも明らかにする。

上記目的のため、NIH 3 T 3 細胞に ER, PR 及び野生型, 変異型 Ki-Ras cDNA を形質導入した細胞株を樹立した。この細胞株を用い、軟寒天培地上のコロニー形成率やヌードマウスでの腫瘍形成を解析するとともに、Ras 蛋白を介する細胞内情報伝達系のシグナルの変化を調べる。

B. 高機能型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 (今村利朗)

[目的]

ヒトパピローマウイルス (HPV) E 6 E 7 遺伝子は子宮頸癌の発生及び癌形質の維持に重要な役割を果たすと考えられている。そこで、E 6 E 7 遺伝子に対するアンチセンスオリゴ DNA (AS) を用いて子宮頸癌細胞の増殖抑制効果を検討した。

[方法]

HPV E 6 E 7 遺伝子転写開始領域に対する20塩基の AS を作成し、細胞内取り込み、増殖抑制効果、細胞形態を検討した。ターゲット遺伝子との相補鎖形式を強固にするために光架橋性分子であるソラーレンを結合させた AS も同様に作成し検討した。

[成績]

- 1) AS はいずれの細胞株に関しても継続して良好に取り込まれていた。
- 2) AS 添加群の C 4-II 細胞 (HPV 18型陽性癌細胞) では $5 \mu\text{M}$ の濃度で著明な増殖抑制効果が認められ、さらに殺細胞効果も認められた。
- 3) AS 添加群の SiHa 細胞 (HPV 16型陽性癌細胞) では増殖抑制効果は見られず、AS の効果が細胞種により異なることが考えられた。
- 4) ソラーレン結合型 AS は $0.5 \mu\text{M}$ の濃度で紫外線 (366nm) 照射を併用することで SiHa 細胞についても著明な増殖抑制効果を示し、形態的には死滅する細胞が多数認められた。

[結論]

ソラーレン結合型 AS は $0.5 \mu\text{M}$ と *in vivo* に十分応用可能な低濃度で殺細胞効果が認められ、また紫外線照射併用により架橋を形成するため腫瘍部位にのみ選択的に作用させることが可能と思われる。高機能型 AS 分子として有用と考えられた。

C. Krev-1 遺伝子導入による子宮体癌細胞株の増殖特性の変化 (西田 眞, 加藤聖子, 坂本隆子)

Krev-1 (rep 1 /smg p 21) は、v -ki-ras 癌遺伝子でトランスフォームしたマウス NIH-3 T 3 細胞をリバートントへ誘導する遺伝子として単離され、ヒトでは1番染色体 1 p 13.3 にマップされる。また、Krev-1 蛋白は Ras 群蛋白と約50%の相同性をもつことがわかってい

る。Krev-1 蛋白が活性化 Ras 蛋白によるトランスフォーメーションを抑制する機構は不明であるが、Ras 蛋白の負の調節因子としてはたらいっている可能性がある。子宮体癌は約20%に ras 遺伝子の変異を認め、その発癌過程に ras 遺伝子が関与していると考えられる。また、正常ヒト1番染色体の単一移入により子宮体癌細胞株の造腫瘍性は抑制される。そこで、4種の Krev-1 cDNA、すなわち1)野生型、2)3)活性化変異型である12Vおよび63E、4)effector domainの変異により生物活性のない38Nを、retrovirus systemを用いて、それぞれ ras 遺伝子が野生型あるいは変異型である子宮体癌細胞株に遺伝子導入し、現在、増殖特性の変化、造腫瘍性の変化について検討している。さらに、これらの細胞株について、Ras 蛋白を介する細胞内情報伝達系における Krev-1 蛋白の役割に関して詳細に検討する予定である。

D. 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 (村瀬隆之, 今村利朗, 和氣徳夫)

[目的]

癌の発生は複数の機構に起因する。DNA 修復酵素の異常を発生原因とする癌の存在も知られている。本研究ではゲノム不安定性を主たる発生原因とする子宮体癌を同定し、その頻度及び発生分子機構を明らかにすることを試みた。

[方法]

- 1) 手術によって摘出した子宮体癌37例を対象とした。
- 2) K-ras 遺伝子点突然変異、p 53の遺伝子変異、18qのLOHの有無を検討した。
- 3) 癌部および非癌部DNAを用いて、複数のマイクロサテライト領域。

(D 2 S 119, D 5 S 107, D 10 S 197, D 13 S 175, D 17 S 261, D 18 S 34) に関して³²P でラベルしたプライマーを用いて増幅し、変性アクリルアミドゲルにより電気泳動した。腫瘍 DNA と正常 DNA との増幅領域のリピート数の変化を評価した。

[成績]

- 1) 子宮体癌症例の約18%に2領域以上のマイクロサテライトの不安定性が存在した。
- 2) マイクロサテライト不安定性 (+) の症例では、K-ras, p 53遺伝子変異、18qのLOHの存在は少なかった。

[結論]

- 1) ゲノム不安定性を原因とする子宮体癌が18%に存在した。
- 2) 遺伝子変異の集積の結果発生する子宮体癌と遺伝子修復機構の異常が関与する子宮体癌に分類されたため、その発生機構は複数存在することが示唆された。

E. 婦人科領域の各種癌，特に卵巣癌における P 16 遺伝子の変異について（鹿沼達哉，西田純一，儀間朝直，和氣徳夫）

細胞周期調節因子の 1 つである cdk 4 インヒビター遺伝子（P 16 と略す）は，P 53 遺伝子と同様，種々の癌で欠失あるいは変異が認められ，機能的不活化が発癌に関与すると示唆されている．子宮頸癌，子宮体癌，および卵巣癌において P 16 遺伝子がこれらの癌化に関与するか否かを検討してきた．

現在までの報告では，癌細胞株，悪性黒色腫，食道癌，膵癌などでその欠失や変異の頻度が高いとされている．我々がおこなった，P 16 遺伝子内に設定された 4 ケ所の STS プライマーを用いた検討では，子宮頸癌細胞株 7 例，子宮内膜癌細胞株 4 例，子宮体癌組織 28 例では，P 16 遺伝子の欠失は観察されなかったが，卵巣癌組織では 24 例中 7 例（24%）に増幅領域内において P 16 遺伝子の両側アレルの欠失が認められた．また，5 例（21%）に PCR 増幅断片の著しい減少が観察された．現在，P 16 遺伝子領域に設定したプライマーを用いての PCR による欠失の有無，RT-PCR による P 16 mRNA の発現の有無，SSCP による変異の有無などを，卵巣癌細胞株および臨床検体を用いて検討している．

F. ヒト子宮体癌における Sdi 1 遺伝子の解析（八谷俊朗，今村利朗，村瀬隆之，和氣徳夫）

老化細胞から単離された Sdi 1 は cyclin-Cdk 2 複合体のキナーゼ活性を抑制する．Sdi 1 は p 53 蛋白の下流で機能し G 1 期から S 期への移行を負に調節する．このため癌化過程で Sdi 1 に生ずる変異は p 53 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．本研究では子宮体癌における Sdi 1 遺伝子の点突然変異を解析し，子宮体癌発生との関連を研究した．

原発性子宮体癌の 62 症例及び細胞株 7 株を対象とし，PCR-cycle sequencing 法にて Sdi 1 遺伝子の塩基配列を決定した．

結果は，Sdi 1 遺伝子コドン 31 で AGC (Ser) から AGA (Arg) への変換を 47 例（76%）に認めた．正常組織との結果と一致していたため，多型が疑われた．そこでコントロール群として，正常人血液 129 例より genomic DNA を抽出し，PCR を行った．増幅後コドン 31 に関し dot blot hybridization を行ったところ，コドン 31 の AGC (Ser) から AGA (Arg) へのアミノ酸変換を 88 例（60%）に認めた．なお，他の点突然変異は認めなかった．以上より Sdi 1 遺伝子のコドン 31 のアミノ酸変換は多型と考えられたが，コントロールに比して，子宮体癌での頻度が高いため，癌化への何らかの関与が示唆された．

G. 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ンティングの関与について（有馬隆博，松田貴雄，和氣徳夫）

IGF 2 (Insulin-like growth factor 2) は父親由来のアレルが，H19 は母親由来のアレルが

選択的に発現し、ゲノムインプリンティング (GI) により発現が制御されていることが報告されている。そこでヒト正常絨毛と全奇胎組織で、IGF 2 及び H19 遺伝子の発現が両親いずれのアリルに由来するの否かを検索し、絨毛の発生及び癌化に GI がいかに関与するかについて解析した。その結果 (1) 絨毛組織で IGF 2 遺伝子の発現の由来が同定できたものは 12 例中 7 例で全て父親由来のアリルの発現を示した。奇胎組織でも 6 例中全例、父親由来のアリルの発現を示した。絨毛癌細胞株では、正常妊娠由来の Bewo 株において母親及び父親由来アリルの発現をまた、CC1, SEG 3, Jar 株においては一方のみのアリルの発現を認めた。(2) 絨毛組織で H19 の発現の由来が同定できたものは 12 例中 2 例でいずれも母親由来のアリルの発現を示した。また、雄性発生を原因とする奇胎組織全例に、H19 の発現を認めた。絨毛癌細胞株では、正常妊娠由来の CC3, NUC 1, JEG 3 株で両親に由来するアリルの発現を認めた。胎状奇胎由来の CC 2 株でも発現を認めた。以上より絨毛及び奇胎組織の IGF 2 の発現は父親アリルに由来し、GI の関与が確認された。また雄性発生を原因とする奇胎組織で H19 の発現を認めたため、同組織における GI の解除が推測された。さらに、絨毛癌でも一部 GI は解除されており、癌化との関連が示唆された。現在絨毛癌化過程における 2 つの遺伝子の発現制御が DNA レベルのメチル化に関与するかどうかを検討中である。

H. 絨毛癌抑制遺伝子単離の試み (松田貴雄, 有馬隆博, 和氣徳夫)

ヒト絨毛癌細胞 (CC1) に正常ヒト 7 番染色体 (CC1 # 7) を単一移入すると、足場非依存性増殖の著明な抑制および細胞倍加時間の延長がみられた。このため、7 番染色体上に、絨毛癌細胞の造腫瘍性抑制にかかわる遺伝子が存在することが推定されている。このため 7 番染色体から絨毛癌抑制遺伝子の単離を試みている。また、これまでにヒト 7 番染色体上の絨毛癌の抑制に関わる遺伝子として報告されている ERV 3, H-plk 遺伝子に関してその周辺領域のマッピングを行い、絨毛癌抑制との関与を検討する。遺伝子単離は以下の方法により行っている。

(1) CC1 と CC1 # 7 より抽出した RNA を用いてアービタリープライマーを用いた RT-PCR を施行し、3' 末端に特異的な増幅を行い (ディフェレンシャルディスプレイ法)、両細胞間で発現の異なるバンドを約 20 種類検出した。現在その遺伝子配列の決定と絨毛癌細胞の造腫瘍性抑制との関連について検索中である。

(2) ヒト 7 番染色体上の ERV 3 遺伝子近傍領域に絨毛癌抑制に関わる遺伝子が存在すると考えられることから、ERV 3-STS を作成し、CEPH-Mega YAC クローンのスクリーニングを行い、ERV 3 遺伝子を含む、メガ YAC クローンを 12 個得た。現在、これらのマップと制限酵素地図を作成中である。ERV 3 遺伝子近傍領域の詳細なマッピングができれば、導入実験によって抑制効果を検討していく予定である。

(3) また、染色体ソーティングによってヒト 7 番染色体特異的コスミドライブラリーを作

製しており、(2)より得られたクローンをプローブとしてコスミドを選択して、コスミドクローンをエクソントラップ法、導入実験によって抑制効果を検討していく予定である。(慶応大学分子生物学清水信義先生との共同研究)。

I. 子宮内膜癌へのエストロゲン、EGFの関与(坂本隆子、加藤聖子、西田 眞、和氣徳夫)

[目的]

子宮内膜癌発生過程におけるエストロゲンとEGFの役割を明らかにするため、子宮内膜癌細胞株におけるER、EGFRの発現およびE2、EGFに対する反応性について検討している。またERやPR陰性の子宮内膜癌細胞株にERまたはPRの発現ベクターをtransfectionし、親細胞とtransfectantのE2やEGFに対する反応性の違いを検討していく。

[方法]

1) 子宮内膜癌細胞株(IK, HHUA, HOUA-1, HEC-1, SNGM)およびMCF-7乳癌細胞株を用い、Northern blot法によるER、EGFRの発現を検討した。

2) 6種類の細胞に対し、チャコール処理1%血清条件下でEGF(10ng/ml)刺激を行った。またチャコール処理1%或いは10%血清条件下でE2(10^{-8} M)刺激を行った。

[成績]

1) ER発現はMCF-7で検出された。しかし全ての子宮内膜癌細胞株は発現を認めなかった。

2) EGFRの発現は全ての子宮内膜癌細胞株で検出されたが、MCF-7では検出されなかった。

3) EGF刺激に対しては、IKのみで増殖促進が見られた。しかし他の4細胞株では変化がないか増殖抑制傾向を認めた。MCF-7では変化がなかった。

4) E2刺激に対しては、1%条件下ではIKで軽度の増殖抑制、SNGMでは変化がなかったのに対し、10%条件下では増殖傾向を認めた。MCF-7では両条件下で増殖傾向を認めたが、10%における増殖はより有意であった。今後、これらのERを発現していない内膜癌細胞株にERの発現ベクターをtransfectionし、親細胞とtransfectantのE2やEGFに対する反応性の違いを細胞増殖、コロニー形成能、EGFRやerbB2の発現およびキナーゼ活性の変化、Ras活性の変化の面から検討していく。

J. HPV E7の機能解析(西田純一、儀間朝直、鹿沼達哉、和氣徳夫)

子宮頸癌発生に関与するHPV E7はアデノウイルス E1aと相同性を有する領域をもち、また両者ともRb蛋白の不活化を招来する。E1aは細胞増殖をもたらすと同時にp53を介するアポトーシスを誘導する。本研究では、E1aに類似するE7蛋白がE1aと同様な機構で

in vitro トランスフォーメーションに関与するのかを検討することを目的とした。ラット胎芽線維芽細胞 (REF), HPV16 型 E 7 (E 7) 導入により不死化した TF-1, E 7 及び AdE 1 b を導入した TF-2, E 7 及び EJras 導入により造腫瘍性を獲得した TF-3 細胞を用いた。それぞれの細胞に低血清処理或いは DOXY 0.2 μ M 処理を行った後, p 53 蛋白蓄積の有無, アポトーシスの有無を検討した。その結果以下のことが観察された。1) DOXY 添加により, 高血清下の REF, 低血清下の TF-1 にのみ明らかな p 53 蛋白の蓄積が観察された。低血清下 REF 及び高血清下 TF-1 では p 53 蛋白の蓄積は観察されなかった。2) 低・高血清下 TF-3 でも p 53 蛋白の蓄積は認められなかった。3) 低血清処理, DOXY 添加の場合のみ REF では DNA フラグメンテーションが観察された。TF-1 ではいずれの場合も DNA フラグメンテーションは観察されなかった。4) 低血清処理或いは DOXY 添加いずれの場合も TF-3 では DNA フラグメンテーションが観察された。したがって本実験では, E 7 は低血清下において p 53 蛋白の蓄積をもたらしたが, アポトーシスは誘導されず E 7 の示すトランスフォーム活性は E 1 a とは別の機構によることが示唆された。2) E 7 及び EJras 導入細胞は, p 53 蛋白蓄積とは無関係にアポトーシスが誘導された。従って, REF において p 53 を介さないアポトーシス経路の存在が示唆された。現在各細胞株での p 53 遺伝子のシーケンスも含め, アポトーシス関連遺伝子の解析を遂行中である。

K. ヒト扁平上皮細胞における p 53 蛋白の機能 (西田純一, 儀間朝直, 鹿沼達哉, 和氣徳夫)

子宮頸癌発生には HPV が関与し, その E 6 蛋白は正常 p 53 機能を不活化することが知られている。したがって子宮頸癌発生には正常 p 53 機能 (一部あるいは全部) の不活化が必要と考えられる。p 53 は細胞周期の G 1 arrest, および apoptosis を誘導しうることが示されているが, これらの機能発現には細胞特異性があると考えられている。そこで, 子宮頸癌発生母地である扁平上皮細胞における p 53 の機能を解析することにより子宮頸癌発生における p 53 機能の不活化の必要性について検討した。野生型 p 53 蛋白を発現する細胞と p 53 蛋白が不活化しているヒト扁平上皮細胞で p 53 蛋白発現, G 1 期停止および細胞死の誘導を解析し, 同上皮細胞における p 53 蛋白の機能について検討した。野生型 p 53 を発現する細胞として NHEK (正常ヒト角化細胞), HWCA (子宮内膜癌細胞), p 53 蛋白機能が不活化されている細胞として C 33 A (変異型 p 53 遺伝子), PHK16 I, PHK16 II (HPV16 型フルゲノムの導入により永代増殖能を獲得したヒト角化細胞), SiHa (HPV16 型ゲノムを含む子宮頸癌細胞) を用いた。DOXY 添加後の p 53 蛋白の蓄積, 細胞周期, アポトーシスをそれぞれウエスタンブロット, フローサイトメトリー, アガロースゲル電気泳動にて観察した。NHEK, HWCA にのみ p 53 蛋白の蓄積および G 1 期停止が観察された。フローサイトメトリー上全ての細胞で subG 1 fraction が観察されたが, DNA ラダーが認められたのは NHEK, HWCA のみであった。G 2 期停止は全ての細

胞で観察された。従って p 53機能が保持されている細胞のみ DNA damaging agent による p 53蛋白の蓄積，G 1 期停止，DNA ラダーが観察されたが，p 53機能が不活化されている細胞においてはこれらの現象は認められなかった。以上の結果扁平上皮細胞での p 53蛋白は G 1 期停止およびアポトーシスによる細胞死の誘導の両方に関与することが示唆された。

L. 婦人科癌発生における hMTH1 の関与（西田純一，儀間朝直，鹿沼達哉，和氣徳夫）

大腸菌の自然突然変異を抑制する遺伝子 MutT 遺伝子のヒトホモログである hMTH1 遺伝子が婦人科癌発生に関与するか否かを検討することを目的として解析を行っている。各種婦人科癌（特に卵巣癌）発生に hMTH1 の異常あるいは多型に関与するか否かを 1）正常組織と 2）癌組織で検討する。

（対象）

1）正常組織における hMTH1 遺伝子多型或いは遺伝子変異の解析

以下のグループに分け血球細胞より DNA を抽出し解析する。

- a) 卵巣癌患者 b) 子宮頸癌患者 c) 子宮体癌患者
- d) 良性婦人科疾患（子宮筋腫，卵巣嚢腫，子宮脱，等）

2）癌組織における hMTH1 遺伝子の変異および発現変化の解析

- a) 卵巣癌細胞株での解析 b) 卵巣癌組織での解析

（解析方法）

1）遺伝子変異の解析

- a) PCR 増幅断片の NsiI 多型の検出
- b) PCR-SSCP 法によるスクリーニング c) Direct sequence

2）遺伝子発現の解析

- a) western blot

現在サンプルの調整中であり血球細胞は300例，癌組織，癌細胞は50例の集積を終了した。

（生医研生化学部門 関口陸夫教授，中別府雄作助手との共同研究）

M. HPV 陰性子宮頸癌発生機構の解析（儀間朝直，西田純一，鹿沼達哉，和氣徳夫）

子宮頸癌組織の10-30%は HPV 陰性であるが，その発癌機構が HPV 陽性癌と異なるかは不明である。当教室において，原発巣で HPV 陽性，再発巣で HPV 陰性であった 2 症例を解析した結果，原発巣における HPV の存在様式は episome であった。従って，HPV 陰性癌においては，episome として存在した HPV が癌化の後に脱落した可能性がある。すなわちすべての子宮頸癌発生には HPV がイニシエーターとして働くという推測が可能である。この仮説を実証するために，同一症例での原発巣，再発巣における HPV の存在様式を解析中である。

N. ウイルスベクターを用いた癌の遺伝子治療の基礎的研究（儀間朝直，西田純一，鹿沼達哉，和氣徳夫）

癌を標的とした遺伝子治療としては，現在免疫系を介した遺伝子治療すなわち *ex vivo* での遺伝子導入が主流となっている．我々は，より直接的な効果が期待できる *in vivo* 投与による遺伝子治療の臨床応用を目標とし，その基礎的研究を開始した．ベクターとしてはレトロウイルス，アデノウイルスを用い，現在発現ベクターを作成中である．内因性遺伝子の変化が比較的明らかになっているヒト子宮頸癌細胞株，卵巣癌細胞株を対象に *in vitro*, *in vivo* (*nude mice*) での解析を行う．

1) ターゲット遺伝子の個別化

HSV-TK, 癌抑制遺伝子, アンチセンス配列 (癌遺伝子, HPV) を発現するベクターを *in vitro*, *in vivo* で遺伝子導入する．細胞のもつ遺伝子変化と導入遺伝子の効果との関連, 複数の遺伝子導入による相乗効果, 作用機序を解析する．これらの解析により, 将来の遺伝子治療の際の個別化の可能性を検討する．

2) 遺伝子発現のトロピズムの解析

遺伝子の *in vivo* での投与による遺伝子治療を想定した場合, 癌組織特異的に遺伝子を導入あるいは発現させることが重要となる．ベクターのプロモーターを選択し, 癌組織特異的に発現するベクターを構築することによりこの問題をクリアーすることを試みている．レトロウイルスはベクターの性質上プロモーターの制御は比較的困難であるため, アデノウイルスを用いて各種プロモーターの解析を行う．各種腫瘍マーカー遺伝子, EGF-R, MAGE, HPV 等のプロモーターを選択し, *in vitro*, *in vivo* での遺伝子発現のトロピズムを解析する．

原著論文

1. Wake, N., Gima, T., Nishida, J., Arima, T., Imamura, T., Nishida, M., Kato, K., Matsuda, T., Tamura, T., Hachiya, T., Sakamoto, T., and Oshimura, M. 1994.
Accumulation of genetic events in endometrial carcinoma and its cell growth inhibition by antisense oligonucleotide complementary to the mutated K-ras gene.
Cancer Molecular Biology., 1, 145-156.
2. Arima, T., Imamura, T., Amada, S., Tsuneyoshi, M., and Wake, N. 1994.
Genetic origin of malignant trophoblastic neoplasms.
Cancer Genet. cytogenet., 73, 5-12.
3. Quillian, L.A., Kato, K., Rabun, K.M., Hisaka, M.H., Huff, S.Y., Campbell-Burk, S. and Der, C.J. 1994.
Identification of residues critical for ras (17n) growth-inhibitory phenotype and for ras interaction with guanine nucleotide exchange factors.

Mol. Cell. Biol., 14, 1113-1121.

4. Miyamoto, S., Nishida, M., Miwa, K., Kato, H., Imamura, T., Barrett, J.C., Shimizu, M., Oshimura, M., and Wake, N. 1994.
Increased actin cable organization after single chromosome introduction. Association with suppression of in vitro cell growth rather than tumorigenic suppression. Molecular Carcinogenesis., 10, 88-96.
5. Gima, T., Kato, H., Honda, T., Imamura, T., Sasazuki, T., and Wake, N. 1994.
DCC gene alteration in human endometrial carcinomas. Int. J. Cancer, 57, 480-485.
6. Sasaki, M., Honda, T., Yamada, H., Wake, N., Barrett, J.C., and Oshimura, M. 1994.
Evidence for multiple pathways to cellular senescence. Cancer Research., 54, 6090-6093.
7. Kohno, K., Danks, M.K., Matsuda, T., Nitiss, J.L., Kuwano, M., and Beek, W.T. 1994.
A novel mutation of DNA topoisomerase II a gene in an etoposide-resistant human cancer cell line. Cell. pharmacol. (in press).
8. Oda, S., Nishida, J., Nakabeppu, Y., and Sekiguchi, M.
 Δ FosB-mediated stabilization of cyclin E and Cdk2 mRNAs at the G1-S transition in rat-1A emerged from G0 state. Oncogene. (in press).
9. Miwa, K., Miyamoto, S., Kato, H., Imamura, T., Nishida, M., Nagata, Y., and Wake, N. 1995.
The role of p53 inactivation in human cervical cell carcinoma development. British J. Cancer, 219-226.
10. Yamada, H., Sasaki, M., Honda, T., Wake, N., Boyd, J., Oshimura, M. and Barrett, J.C.
Suppression of endometrial carcinoma cell tumorigenicity by human chromosome 18. Genes, chromosomes and Cancer (in press).

総 説

1. 有馬隆博, 今村利朗, 松田貴雄, 和氣徳夫. 1994.
絨毛性疾患の分子病理学.
病理と臨床, 12, 1195-1202.
2. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫. 1994.
絨毛癌化機構-癌抑制遺伝子とゲノムインプリンティング.

- 医学のあゆみ, 171, 762-764.
3. 有馬隆博, 今村利朗, 和氣徳夫. 1995.
絨毛性疾患の DNA 解析.
病理と臨床, 13, 372-374.
 4. 有馬隆博, 松田貴雄, 今村利朗, 和氣徳夫. 1994.
ゲノムインプリンティング.
組織培養, 20, 451-454.
 5. 西田 眞, 和氣徳夫. 1994.
カドヘリンの機能と構造.
Oncology & Chemotherapy, 10, 9-13.
 6. 今村利朗, 和氣徳夫. 1993.
子宮体癌の遺伝子診断と遺伝子治療.
今月の臨床, 47, 1404-1405.
 7. 今村利朗, 有馬隆博, 和氣徳夫. 1994.
発癌とゲノムインプリンティング.
実験医学, 12, 1148-1151.
 8. 村瀬隆之, 今村利朗, 有馬隆博, 和氣徳夫. 1995.
癌と遺伝子の話題.
産婦人科の実際, 44, 49-54.
 9. 今村利朗, 有馬隆博, 和氣徳夫. 1995.
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.
 10. 今村利朗, 和氣徳夫.
子宮体癌の診断と治療—遺伝子治療.
今日の治療. (印刷中).
 11. 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の増殖抑制効果.
臨床薬理の進歩. (印刷中).
 12. 和氣徳夫. 1994.
がん遺伝子を標的とした化学分子の癌治療への応用.
日本産婦人科学会雑誌, 46, 742-748.
 13. 松田貴雄, 今村利朗, 和氣徳夫. 1994.
知っておきたい最近の話題: ジーンマッピング.
産科と婦人科, 131, 1675-1682.

学会発表

1. 西田純一, 松田貴雄, 儀間朝直, 安本 茂, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
細胞周期チェック機構とP53不活性化様式との関連.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
2. 西田 眞, 安本 茂, 加藤聖子, 坂本隆子, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
ヒトパピローマウイルス16型を介した細胞形質転換過程におけるアクチンアイソフォームの発現変化.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
3. 加藤聖子, 加藤圭次, 西田 眞, 八谷俊朗, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
子宮内膜癌細胞における Ras 蛋白の変異と増殖シグナルとの関連.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
4. 今村利朗, 加藤秀則, 宮本新吾, 西田 眞, 安本 茂, 村上 章, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
HPV16E 7 に対するアンチセンス DNA による子宮頸癌細胞株および HPV 導入不死化細胞の増殖抑制効果.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
5. 田村尚也, 今村利朗, 有馬隆博, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
子宮内膜癌におけるエストロゲンおよびプロゲステロンレセプター遺伝子の変異.
第46回 日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
6. 儀間朝直, 今村利朗, 西田純一, 西田 眞, 鹿沼達哉, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
子宮内膜癌細胞株における DCC 遺伝子の変異.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
7. 松田貴雄, 西田純一, 儀間朝直, 西田 眞, 安本 茂, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
HPV16 DNA 導入不死化細胞の細胞増殖における性ステロイドの影響.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
8. 有馬隆博, 今村利朗, 田村尚也, 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
胞状奇胎を先行妊娠とする絨毛癌の発生機序に関する分子生物学的検討.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
9. 和氣徳夫. (1994, 4/9-12)
がん遺伝子を標的とした科学分子の癌治療への応用.
第46回日本産科婦人科学会総会学術講演会, 東京.
10. 有馬隆博, 松田貴雄, 和氣徳夫. (1994, 4/24)
睾丸性女性化症候群のアンドロゲン受容体遺伝子の点突然変異に関する検討.
第 5 回日本不妊学会九州支部会教育講演, 福岡.

11. 松田貴雄, 有馬隆博, 和氣徳夫. (1994, 4/28)
遺伝子診断により確認された全胞状奇胎の一例.
第3回大分婦人科悪性腫瘍研究会, 大分.
12. 松田貴雄, 有馬隆博, 西田 眞, 儀間朝直, 今村利朗, 和氣徳夫. (1994, 5/28-29)
全胞状奇胎と部分胞状奇胎のDNA多型解析による遺伝学的鑑別について.
第43回日産婦学会九州連合地方部会, 鹿児島.
13. 村瀬隆之. (1994, 5/28-29)
当科におけるLaparoscopic surgeryについての検討.
第43回日産婦学会九州連合地方部会, 鹿児島.
14. 西田純一, 松田貴雄, 儀間朝直, 安本 茂, 和氣徳夫. (1994, 6/17)
ヒト扁平上皮細胞におけるP53蛋白の機能.
第5回日本産婦人科遺伝子診断研究会, 東京.
15. 松田貴雄, 有馬隆博, 和氣徳夫. (1994, 6/18)
Differential Displayを用いた絨毛癌抑制遺伝子単離の試み.
第12回 絨毛性疾患研究会, 東京.
16. 有馬隆博, 松田貴雄, 和氣徳夫. (1994, 6/18)
Genomic imprintingを受けるヒト胎盤の遺伝子の同定.
第12回絨毛性疾患研究会, 東京.
17. 村瀬隆之. (1994, 7/3)
当科におけるLaparoscopic surgeryについての検討.
日本産婦大分地方部会総会学術講演会, 大分.
18. 和氣徳夫. (1994, 7/28-29)
HPV E6/E7 遺伝子機能とその発現抑制.
第23回日本婦人科病理コルポスコピー学会学術集会 特別講演, 久留米.
19. 和氣徳夫. (1994, 10/17)
—細胞工学的手段による細胞の分化・老化の研究—
染色体移入によるヒト絨毛癌細胞の造腫瘍性抑制とマウスF9細胞の分化誘導.
第25回(財)佐々木研究所シンポジウム, 東京.
20. 西田純一, 松田貴雄, 儀間朝直, 安本 茂, 和氣徳夫. (1994, 10/19-21)
ヒト扁平上皮細胞におけるP53蛋白の機能.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
21. 村瀬隆之, 今村利朗, 和氣徳夫. (1994, 10/19-21)
子宮内膜癌におけるmicrosatelliteへ遺伝子不安定性.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.

22. 坂本隆子, 西田 眞, 今村利朗, 安本 茂, 和氣徳夫. (1994, 10/19-21)
ヒト・パピローマウイルス E 7 蛋白がアクチンアイソフォームの発現に及ぼす影響.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
23. 八谷俊朗, 今村利朗, 和氣徳夫. (1994, 10/19-21)
ヒト子宮体癌における細胞周期調節機構の解析.
第53回日本癌学会総会, 名古屋.
24. 今村利朗, 西田 眞, 坂本隆子, 村上 章, 和氣徳夫. (1994, 10/19-21)
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53回日本癌学会総会, 名古屋.
25. 和氣徳夫. (1994, 11/6-9)
Genetic origin of choriocarcinoma.
VII World congress on Gestational Trophoblastic Disease (Hong Kong).
26. 今村利朗. (1994, 11/9)
がんの遺伝子診断の臨床応用に関する研究.
子宮体癌の遺伝子診断の確立に関する研究.
厚生省 がん克服戦略研究事業 平成6年度 第1回 杉下班会議, 東京.
27. 儀間朝直. (1994, 11/19-20)
子宮体癌における DCC 遺伝子の変化.
第44回日産婦学会 九州連合地方部会, 鹿児島.
28. 松田貴雄, 有馬隆博, 加藤聖子, 村瀬隆之, 八谷俊朗, 坂本隆子, 和氣徳夫. (1994, 11/19-20)
PCO 症候群と糖代謝異常の関連について.
第39回日本不妊学会九州支部会, 鹿児島.
29. 今村利朗, 村上 章, 和氣徳夫. (1994, 11/26)
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7回日本婦人科悪性腫瘍化学療法学会, 東京.
30. Imamura, T., Arima, T., Kato, R., Murakami, A., and Wake, N. (1994, 12/4-7)
“Effects of human papilloma virus specific antisense oligonucleotides on human cervical cancer cell lines”
First International Antisense Conference of Japan, Kyoto.