


平成 29 年 6 月 30 日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者 (職名)	氏名	所属施設					
	熊谷勝義 (助教)		施設名 疾患モデル研究 センター	所在地	東京都新宿 6-1-1	電話	03-3351-6141
研究課題	子宮頸癌発症のメカニズム解明と新規予防・治療法の開発						
研究目的	子宮頸癌の発症は、Human Papilloma Virus (HPV)由来E6/E7の関与が知られている。子宮頸癌発症者の90%以上にHPV感染が認められ、持続的感染が子宮頸癌発症の原因と考えられている。子宮頸癌の治療では、子宮の一部摘出や全摘出、放射線治療など外科的処置が施されるため、患者は肉体的・精神的負担を強いられる。本研究では子宮頸癌の患者で発現するE6/E7と共に高発現するWaplに着目し、これらの遺伝子改変マウスを作製することで病態モデルマウスを作製する。さらに、生体を解析することで発症のメカニズムを解明し、Waplが子宮頸癌に効果的な予防あるいは治療の因子になりうるかを検討することで子宮頸癌の新規予防・治療法の開発を目指す。						
研究方法	in vitroでは、上皮系細胞 (NIH3T3) でE6/E7およびWaplを発現する細胞をクローニングし、コロニー形成能や造腫瘍性の有無を検討する。つぎに、細胞周期や細胞増殖に関連する遺伝子群の発現パターンを明らかにする。In vivoでは、まず、子宮頸部にてE6/E7およびWaplを高発現させたマウスを作成する。つぎに、これら遺伝子改変動物同士を自然交配することで両遺伝子を持つマウスを獲得し、子宮頸部を免疫染色することでガン発症を検討する。子宮頸癌発症が認められた場合には、高発現しているWaplを分解させることで、子宮頸癌発症の抑制を検討する。						
研究成果	E6/E7とWaplを高発現させるコンストラクトを構築し、NIH3T3へ導入したところ両遺伝子発現を示すstable細胞を獲得することに成功した。これらの細胞を用いてコロニーフォーメーションアッセイを行ったところ、E6/E7およびWaplいずれも導入された細胞では約2週間程でコロニー形成能が認められた。さらに、これら細胞を免疫不全マウスの皮下へ移植することで造腫瘍性を検討したところ、約3週間程でE6/E7およびWaplいずれも導入された細胞のみ造腫瘍性が認められた。これらの結果から、E6/E7とWaplの高発現は腫瘍形成に関与することが示唆された。つぎに、細胞周期や細胞増殖に関連する遺伝子群の発現解析を検討したところ、アポトーシスや細胞増殖に関連する遺伝子群に高発現が示された。さらにE6/E7を導入した細胞では、内在性のWapl発現の亢進が認められた。これらの結果から、E6/E7とWaplには正の相関があり、アポトーシス阻害や細胞周期に関与することが示唆された。						

<p>研 究 成 果</p>	<p>in vitroでE6/E7とWap1の高発現により腫瘍形成が示されたことから、つぎに、in vivoで子宮頸部での腫瘍形成を検討した。子宮頸部でE6/E7およびWap1を発現させるために、Progesterone receptorの制御下でE6/E7を発現させるマウス(ノックインマウス)と全身でWap1を高発現させるマウス(Tgマウス)を各々作製し、お互いに交配することで子宮頸部E6/E7およびWap1発現マウスを樹立した。本研究の一部の成果は、論文として科学雑誌に掲載された「Exp Anim. 2017;66:125-136.」。また、一部マウスの子宮頸部を免疫染色したところ、子宮頸癌に関与する一部のマーカーが陽性を示す結果を得られつつある。現在、統計学的な解析を行うためにマウスの匹数を増やして実験を進めている。</p>
<p>今 後 の 予 定</p>	<p>in vitroでE6/E7とWap1の高発現により腫瘍形成が示されたことから、in vivoで子宮頸部での腫瘍形成を検討する。まず、子宮頸部でE6/E7およびWap1を発現させるために、Progesterone receptorの制御下でE6/E7を発現させるマウス(ノックインマウス)と全身でWap1を高発現させるマウス(Tgマウス)を各々作製し、お互いに交配することで子宮頸部E6/E7およびWap1発現マウスを作製した。現在、一部のマウスの子宮頸部を免疫染色を行ったところ、腫瘍や細胞増殖に関わるマーカーの陽性が示されつつある。現在、統計学的な解析を行うためにマウスの匹数を増やしている。今後は、我々が作製したマウスが子宮頸癌のモデルマウスとして確立し、このモデルマウスを利用してWap1を標的にした子宮頸癌の新規予防・治療法の確立を目指す。</p>

様式第3号

公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金収支決算報告書

平成 29 年 6 月 30 日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者所属施設名 疾患モデル研究センター

氏 名 熊谷 勝義



収 支 決 算 書

(単位 円)

交付を受けた助成金額		金 2,500,000円		
	費 目	明 細	単 価 及 金 額	計 額
支 出 内 訳	設備、備品費	・パソコン本体	411,048	2,510,746
		・パソコン付属品	19,390	
	・研究室修繕	600,000		
・業務用デスクシステム	279,440×2台=558,880			
・プリンター	48,455			
・掃除機	80,287			
・ICレコーダー	69,734			
・電話機	36,413			
・業務用椅子	232,000			
・エアコン	137,031			
・冷蔵庫	263,724			
		・温湿度記録計	53,784	
	消耗品費	ペルオキシニ 硫酸アンモニウム	1,296	1,296
	計			2,512,042
過△不足額				△12,042
備	考 過不足分は自己負担とさせて頂きました。			

支 出 費 内 訳

区 分	金 額	根 拠
設備、備品費	411,048	研究室設置データ解析用パソコン
	19,390	パソコン付属品:マウス・キーボード
	600,000	学内研究室の修繕費
	558,880	研究室設置業務用(実験用)デスク
	48,455	研究室設置プリンター
	80,287	研究室設置掃除機
	69,734	ICレコーダー(会議・学会用ボイスレコーダー)
	36,413	研究室設置電話機
	232,000	研究室設置業務用椅子
	137,031	研究室設置エアコン本体
消耗品費	263,724	研究室設置冷蔵庫(試薬・サンプル保管庫)
	53,784	温湿度記録計(動物飼育室用温湿度記録計)
消耗品費	1,296	ペルオキシニ硫酸アンモニウム(試薬)