



Title	Enhanced expression of Annexin A4 in clear cell carcinoma of the ovary and its association with chemoresistance to carboplatin
Author(s)	金, 雅子
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/54075">https://hdl.handle.net/11094/54075</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	きむ 金 雅子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23300 号
学位授与年月日	平成21年7月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	Enhanced expression of Annexin A4 in clear cell carcinoma of the ovary and its association with chemoresistance to carboplatin (卵巣明細胞腺癌におけるAnnexin A4発現とカルボプラチニン抵抗性に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 木村 正 (副査) 教授 金倉 讓 教授 野口真三郎

#### 論文内容の要旨

卵巣明細胞腺癌は上皮性卵巣悪性腫瘍の中でも化学療法抵抗性を示し、予後不良で、かつ日本ではその頻度が全体の20%近くと欧米に比して高い割合を占める。本研究は他の組織型と比べて卵巣明細胞腺癌にて高発現を示す蛋白質を同定し、薬剤耐性との関係とその詳細なメカニズムを解明することを目的とした。

#### 方法ならびに成績 ]

明細胞腺癌(薬剤抵抗性)、及び漿液性腺癌(薬剤感受性)由来の2種類の卵巣癌細胞株から蛋白質を抽出し、蛍光標識2次元ディファレンス電気泳動法(2-dimensional differential gel electrophoresis( 2D-DIGE))と質量分析計を用いたプロテオーム解析により発現差を示す蛋白質を解析した。その結果、明細胞腺癌に高発現を示す蛋白質の一つとしてAnnexin A4を同定した。Annexin A4は漿液性腺癌(OVSAHO, OVKATE)と比較し、明細胞腺癌細胞株(OVISE, OVTOKO, OVMANA, RMG-1)にて顕著に高発現していることがmRNAレベル(real-time RT-PCR)、及び蛋白質レベル(Western blot法)にて確認された。さらに計126検体(明細胞腺癌: 43例、類内膜腺癌: 13例、粘液性腺癌: 8例、漿液性腺癌: 62例)の卵巣腫瘍検体を用いてAnnexin A4の免疫組織化学染色を行った結果、明細胞腺癌では類内膜腺癌、漿液性腺癌に比べAnnexin A4の発現が有意に高いことが明らかとなった( $p<0.01$ )。

次に、Annexin A4の発現が見られない漿液性腺癌細胞株OVSAHOにAnnexin A4遺伝子を導入したAnnexin A4安定発現株を樹立し、MTTアッセイ法によりカルボプラチニに対する抵抗性への影響を調べた。その結果、コントロール(空ベクター導入OVSAHO)におけるIC<sub>50</sub>値は23μMであったのに対し、Annexin A4安定発現株のIC<sub>50</sub>値は42μMであり、Annexin A4安定発現株はカルボプラチニに対する抵抗性を獲得することが確認された。

最後に、偏光ゼーマン原子吸光光度計にてカルボプラチニ処理後の細胞内Pt量をAnnexin A4安定発現株とコントロール間に比較し、カルボプラチニの取り込みあるいは排出の差を調べた。各々の細胞株でカルボプラチニ処理後すぐに細胞を回収し、Ptを定量する群(0分群)とカルボプラチニ処理後、カルボプラチニを含まない培地に交換し360分静置後に細胞内Ptを定量する群(360分群)に分けた。その結果、Annexin A4安定発現株ではコントロールと比較して、0分群、360分群共に有意に細胞内Pt量が少なく(順にp<0.002, p<0.0004)、Annexin A4安定発現株での2群を比較した場合、360分群では0分群よりも有意に細胞内Pt量が減少していた(p<0.0025)ことより、Annexin A4は薬剤の細胞外排出を促進することで薬剤抵抗性に関与することが示唆された。

## 総括

本研究で、Annexin A4が卵巣明細胞腺癌細胞株のみならず、卵巣明細胞腺癌腫瘍組織においても高発現を示すことを初めて明らかにした。また、Annexin A4安定発現卵巣細胞癌株がカルボプラチニ抵抗性を獲得することも示された。Annexin A4は細胞膜を裏打ちする形で局在する膜タンパク質であることから、Pt薬剤の細胞外排出を促進することによって薬剤抵抗性に関与する事が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、臨床的に化学療法に抵抗性を示し予後不良とされる卵巣明細胞腺癌について薬剤耐性に関わる蛋白質を同定し、薬剤耐性に関わるメカニズムを解明することを目的とした。卵巣癌細胞株を用いたプロテオーム解析により漿液性腺癌と比較して明細胞腺癌に高発現する蛋白質としてAnnexin A4を同定した。明細胞腺癌を含む4つの組織型の卵巣癌患者腫瘍組織を用いた免疫組織化学染色において、薬剤感受性である漿液性腺癌、類内膜性腺癌と比して明細胞腺癌で有意にAnnexin A4染色陽性率が高いことが示された。Annexin A4安定発現株とコントロール株を用いてカルボプラチニ抵抗性を比較したところ安定発現株でより抵抗性を示した。細胞内Pt量を比較解析した結果、Annexin A4はカルボプラチニの細胞外排出を促進することで薬剤耐性に関わることが示唆された。

本研究は学位に値するものと認める。