

291 子宮内膜癌細胞株に対するEGFおよびエストロゲンの作用の解析

帝京大

坂本隆子, 村瀬隆之, 森 宏之

[目的]子宮内膜癌の増殖にはEGFやエストロゲンが関与すると考えられるが詳細は不明である。そこでそれらの作用機序を解明するため、子宮内膜癌細胞株を用いて検討した。[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法によりER, EGFRの発現を検討した。2)MCF-7, IK, SNGMに対し、チャコール処理1%或いは10%血清条件下でE₂刺激を行い、細胞増殖能を検討した。3)E₂およびEGF刺激時のコロニー形成能を軟寒天培養法にて検討した。4)E₂およびEGF刺激時のMAP kinaseのリン酸化をWestern blot法にて検討した。[成績]1)ER発現はMCF-7でのみ、EGFRの発現は子宮内膜癌細胞株でのみ認められた。2)E₂刺激に対しMCF-7では1%および10%条件下で増殖を認めた。IK, SNGMでは10%条件下でのみ増殖した。3)MCF-7ではE₂, E₂+EGFでコロニー形成率が上昇した。IK, Hec-1ではE₂, EGF, E₂+EGFで上昇し、IKではEGFとE₂の間に相加作用を認めた。HHUA, SNGMではEGF, E₂+EGFで上昇したが、HOUA-1では変化はなかった。4)用いた細胞株でEGF刺激に対しMAPKのリン酸化を認めたが、E₂刺激に対しては認めなかった。[結論]1)ER発現のあるMCF-7では血清濃度に関係なくE₂刺激により細胞増殖を認めた。ER発現がないか顕著に抑制されているIKとSNGMではE₂と増殖因子との相互作用により細胞増殖の促進が誘導されることが示唆された。2)E₂刺激に対するコロニー形成率の上昇は、ER発現がないか顕著に抑制されているIKやHec-1でも認め、ERを介さない情報伝達系とのクロストークの存在も示唆された。3)EGF刺激により、全細胞株でMAPKのリン酸化を認めたがE₂刺激では認めず、E₂がEGFRの下流シグナルを活性化する証拠は得られなかった。

292 内膜癌細胞 ISHIKAWA株におけるMPA, tamoxifenのER exon skipping alternative splicingに与える影響について

京都府立医科大学

細川健一、田村尚也、三戸和子、近藤徳正、大野洋介、山本 宝、本庄英雄

[目的]我々はwild type estrogen receptor (WT ER)のligand binding domainである exon 5 および exon 7が欠失した alternatively spliced variant ER (SV5, SV7)の発現にMPA, tamoxifen (TAM)が影響を与えていることを報告してきた。今回、DNA binding domainである exon 3の欠失ER (SV3)を同定し、両薬剤の発現への影響について検討した。[方法]分化型内膜腺癌 ISHIKAWA株細胞 (ER+, PR+)を用い、薬剤無添加群、MPA (10⁻⁹~10⁻⁵M)添加群、TAM (10⁻⁹~10⁻⁵M)添加群より各々total RNAを調整した。ER exon 2~4 (exon3), exon 4~6 (exon5)および exon 6~8 (exon7)を規定した³²P labeled primerを用い、mRNA量とPCR産物のあいだに定量性の確認された23 cycleにおいて定量的RT-PCRを行い泳動後、WT, SV bandの放射能活性を測定した。[成績]薬剤無添加群、MPA添加群、TAM添加群すべてにWT, SV3, SV5, SV7の発現が確認された。その発現比率は薬剤無添加群でWT:SV3:SV5:SV7=1:0.53:0.21:0.56であった。MPA (10⁻⁹~10⁻⁵M)添加群においては、WT:SV3:SV5:SV7=1:0.54~0.61:0.26~0.33:0.63~0.74とSVの発現比率は全て濃度依存性に有意に上昇した(p<0.05)。量的検討ではMPA添加によりWTの減少を認めたがSVには明らかな変化を認めなかった。TAM添加群では、各濃度ともSV/WTの発現比率には有意な変化を認めず発現量はWT, SVとも減少傾向にあった。[結論]MPAはWTのみを減少させ、一方TAMはWT, SVとも変動させたことよりER mRNAのalternative splicingにたいする効果発現機序は両薬剤で異なっている可能性が示唆された。