

293 正常子宮内膜、内膜増殖症、子宮内膜癌細胞における exon skipping alternatively spliced variant ER mRNAの発現について

京都府立医科大学

田村尚也、細川健一、三戸和子、近藤徳正、大野洋介、山本 宝、本庄英雄

[目的] exon 5 spliced variant ER (SV5)、exon 7 spliced variant ER (SV7) は wild type ER (WT)に 対し、それぞれ dominant positive あるいは negative に作用すると報告されている。今回、正常子宮内膜、内膜増殖症、子宮内膜癌における SV5, SV7の発現について比較検討した。[方法] 患者の同意を得て、正常月経周期を有し良性子宮病変にて摘出された子宮より得た正常子宮内膜 (36症 例)、病理的に内膜増殖症と診断された臨床検体 (5 症例)、子宮内膜癌原発巣組織 (52症例) よりtotal RNAを調整した。exon 4~6 (exon 5) および exon 6~8 (exon 7) 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を行いポリア クリルアミドゲルにて泳動後 WT, SV bandの放射 能活性をそれぞれ測定し、SV/WTの発現比率を検 討した。[成績] 正常子宮内膜では 0.22 ± 0.17 (av. $\pm$ S.D., SV5/WT), 0.54 ± 0.49 (SV7/WT)、内膜 増殖症では 1.97 ± 1.35 (SV5/WT), 3.52 ± 2.86 (SV7/WT)、子宮内膜癌では 3.13 ± 9.93 (SV5/WT), 5.68 ± 6.81 (SV7/WT) であった。月経周期を有す る正常子宮内膜では SV5, SV7の発現量は一定に維 持されており、WTをうわまわる発現量は認められ なかった。しかし、内膜増殖症や内膜癌でのSV発 現量は極めて高く、またその変動域は内膜癌におい て非常に大きかった。[結論] 内膜増殖症、内膜癌で は ERの alternative splicingの機序に変化が生じて おり、この変異が異常内膜増殖過程に対し内分泌学 的に何らかの影響を与えていると考えられた。

294 Estrogen receptor(ER) co-trans fectantによるc-erbB2 transfectantの悪性度の reversion現象とそのメカニズムについて

日本大

太田裕穂、坂元秀樹、白川貴士、高見雅司、 木下和哉、石井裕子、佐藤和雄

[目的]c-erbB2は癌増殖に関連する膜受容体 P185をコードする。乳癌や体癌ではP185発現 とERの有無が逆相関するが、両者が腫瘍の性 格にどのような影響を与えるか明かではない。 そこでこれらの遺伝子を本来ERを発現してい ないNIH3T3細胞に導入し、悪性度の変化を検 討した。[方法]癌原性の変異c-erbB2ならびに 正常ヒトER+変異c-erbB2をNIH3T3に導入し (それぞれ3T3^{c-erbB2}, 3T3^{c-erbB2/ER}と略)、増 殖態度、nude mouse接種による生存率を検討 した。また10⁶個の細胞に10%FCSならびに ³²P-γ ATPを5分間添加し、P185受容体の磷酸 化を測定した。またmatrix type metallo proteinase (MT-MMP)の発現をRT-PCRで検討 した。[成績]3T3^{c-erbB2}, 3T3^{c-erbB2/ER}のin vitro 増殖性、c-erbB2転写効率に差はなかった。 nude mouse (n=20)への接種では、ERの co-transfectionの結果、生存率が有意に上昇し た (p<0.005, Kaplan-Meier法)。一方 3T3^{c-erbB2/ER}ではP185の磷酸化が3T3^{c-erbB2}の約 1/4($23.2 \pm 5.5\%$, mean $\pm$ SD, p<0.05, n=6)に低 下していた。MT-MMPmRNAは約70%の減少 ($30.2 \pm 12.0\%$, mean $\pm$ SD, p<0.05, n=6)を認め た。[結論]ERの発現はc-erbB2による悪性化と 浸潤性を抑制した。それぞれのtransfectantで c-erbB2の転写効率が変わらないことからERに よる悪性度のreversionはpost transcriptional なものでP185磷酸化抑制に関連すると考えら れたが、MT-MMP遺伝子は直接転写抑制を受 けるものと思われる。