

21 エストロゲンはテロメラーゼ遺伝子発現を活性化する

金沢大

京 哲、高倉正博、金谷太郎、井上正樹

〔目的〕 telomeraseの活性化は細胞の不死化や癌化に関与していると考えられている。我々は以前より正常子宮内膜にもtelomerase活性が認められ、内膜の増殖様式や癌化と密接に関連していることを報告してきた。特に増殖期内膜では子宮体癌に匹敵する高活性が認められ、性ステロイドとtelomerase発現の関連が示唆されている。最近我々はtelomeraseのcatalytic subunitであるhTERTの遺伝子promoterをクローニングした。そこで今回、エストロゲンがtelomerase遺伝子の転写発現に与える影響を検討した。〔方法〕単離したhTERTの遺伝子promoter配列を有するreporter plasmidを作製し、子宮内膜癌細胞株をはじめとする癌細胞にこれらを導入し、エストロゲンを1nMから1 μ Mの濃度で培養液中に加えた。同時に、ER発現ベクター導入群と非導入群も設定した。48時間後に細胞を回収し、luciferase assayを行った。homology searchによりER responsive element (ERE)の検索を行い、gel shift assayにてERの結合性を検討した。〔成績〕Ishikawa細胞およびSiHa細胞でエストロゲン添加によりhTERT転写活性が最大4-5倍まで増強した。これはエストロゲンの濃度に依存し、50-100nMで最大であった。また転写活性化にはERの発現が必須であった。ホモロジー検索ではhTERT promoterの転写開始部上流約2800bpにERE類似配列が、さらに転写開始部上流860bpにはERE half siteとSP1siteが並列して存在することが明らかになった。特に後者はERがSP1との相互作用で遺伝子プロモーターを転写活性化することが知られている配列に類似し、実際gel shift assayでは両者にERの結合を確認した。これらのsiteを欠失させた deletion mutantを用いたluciferase assayではエストロゲンによる転写活性反応は減弱した。〔結論〕エストロゲンがERを介してtelomerase遺伝子発現を転写レベルで増強することが明らかになった。hTERTの基本転写因子の同定も同時に行いつつあり、これらとERの相互作用についても現在検討中である。

22 ガラクトース転移酵素のアンチセンス導入による子宮体癌細胞の増殖・浸潤の抑制

慶應大

久布白兼行、岩田 卓、山下 博、竹原京子、塚崎克己、吉村泰典、野澤志朗

〔目的〕我々は子宮体癌細胞におけるガラクトース転移酵素が細胞の接着能・浸潤能に関与することを報告してきた。近年、糖転移酵素の遺伝子を細胞に導入し、実験的転移を抑制しようとする試みが行われるようになった。そこで我々は β 1,4ガラクトース転移酵素のアンチセンスcDNAを用いて子宮体癌細胞の増殖・浸潤が抑制されるか否かを検討した。〔方法〕①子宮体癌由来株SNG-MへpCAGGS表現vectorに挿入したヒト β 1,4ガラクトース転移酵素(GTと略)のアンチセンスcDNAを導入し、GTアンチセンスcDNA導入株におけるGTの蛋白およびmRNAの発現を解析した。②GT低発現株について*in vitro*における細胞増殖、固相化したラミニンやコラーゲンに対する接着能、マトリゲルを用いた*in vitro* invasion assayにて細胞の浸潤能を解析した。③GT低発現株をヌードマウスに皮下移植した際の異種移植能を検討した。〔成績〕①子宮体癌由来株SNG-MにGTのアンチセンスcDNAを導入した結果、GTの蛋白およびmRNAの発現が低下した4種類のトランスフェクタントが得られた。②GT低発現株はvector control (V) に比べ細胞倍加時間は長くなった($P < 0.01$)。GT低発現株の固相化したラミニンやコラーゲンに対する接着細胞数はVに比べ減少し($P < 0.01$)、マトリゲルに対する浸潤細胞数も減少した($P < 0.05$)。③GT低発現株をヌードマウスへ皮下移植したところ、Vは5/10 (50%) に生着したのに対し、GT低発現株は1/10 (10%)であり、異種移植能は低下した($P < 0.05$)。〔結論〕 β 1,4ガラクトース転移酵素のアンチセンスcDNAを子宮体癌細胞に導入することによって、細胞の増殖や接着能・浸潤能が抑制されることを明らかにした。