

**P-289** 正常子宮内膜および子宮体癌におけるDCC発現の検討

九州大生医研

近藤晴彦, 周勇, 浅野間和夫, 小川昌宣, 松田貴雄, 加藤秀則, 和氣徳夫

【目的】DCC遺伝子は癌抑制遺伝子として知られている。DCCはNetrin-1などのリガンドと結合しアポトーシス誘導が抑制される。今回我々は正常子宮内膜およびその癌化過程でのDCCの関与を検討する目的で、DCC発現について検討した。

【方法】1) 手術にて採取した正常子宮内膜組織12例からグアニジン塩化セシウム超遠心法を用いてRNAを抽出し、アイソトープでラベルしたプライマーを用いてRT-PCRを行い、シグナル強度を測定した。子宮体癌33例についても同様にRT-PCRにて検討した。2) 摘出子宮内膜の病理標本から月経周期を検討し、DCC抗体を用いて免疫染色を行った。子宮体癌組織4例についても同様に免疫染色を行った。

【成績】1) 正常子宮内膜12例中増殖期は8例、分泌期は4例であった。免疫染色では増殖期8例中7例、分泌期4例中2例がDCC陽性であり、免疫染色での月経周期におけるDCC発現については一定の傾向を認めなかった。RT-PCRでも同様の発現パターンを示した。2) 子宮体癌においてはRT-PCR33例中28例で、免疫染色で4例中4例にDCC発現の消失を認めた。

【結論】1) 子宮体癌におけるDCC発現の消失から、子宮内膜癌化にDCC発現の消失が関与することが示唆された。2) 正常子宮内膜におけるDCC発現は、その正常機能維持にDCCが関与していることを示唆した。

**P-290** 子宮内膜fibroblastsおよびHUVEC培養上清添加による子宮体部未分化癌細胞株のmatrix metalloproteinases (MMPs)の発現変化

保健衛生大

長谷川清志, 西澤春紀, 門脇 恵, 安江 朗, 廣田 穰, 澤田富夫

【目的】子宮体部未分化癌は稀かつ予後不良な疾患の一つで、我々は新規樹立細胞株(TMG-L)を用いてその細胞生物学的特性を検討中である。TMG-LはE-cadherin低発現株で、高浸潤能を有することが判明している。今回、子宮内膜fibroblastsおよび臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)培養上清添加によるTMG-LのMMPsの発現変化に関して検討し、E-cadherinを高発現する高分化型子宮体癌細胞株(SNG-II)と比較した。【方法】16時間無血清培養した子宮内膜fibroblastsおよびHUVEC培養上清を60℃、3時間incubateし内因性のMMPsを失活させ、serum free RPMI + 30%培養上清(conditioned medium, C.M.)をTMG-LおよびSNG-IIに添加後、4時間後、8時間後、16時間後の培養上清をgelatinおよびcasein zymographyで検討した。また、各細胞よりtotal RNAを抽出し、RT-PCR (internal control : GAPDH)によりMMP-2, 3, MT1-MMP mRNAの発現変化を検討した。【成績】1) TMG-L, SNG-IIともにMMP-2, 9の発現が認められたが、MMP-3はTMG-Lにのみ認められた。2) MMP-2活性化率(active MMP-2 / (pro+active MMP-2)), MT1-MMP mRNAの発現はTMG-Lが有意に高値であった(t検定)。3) TMG-LのMMP-2, 3の発現およびSNG-IIのMMP-2の発現はC.M.添加により増加することが示唆された。【結論】TMG-L, SNG-IIともにfibroblastsおよびHUVECとの接触共存培養でなくともC.M.のcytokinesによりMMPsの発現の増加が認められ、TMG-Lではより発現の増加が認められたことより本細胞株の浸潤転移能に密接に関与しているものと考えられた。

**P-291** 子宮体癌細胞におけるK-RasとH-Rasシグナルの機能

九州大生医研, 国立中津病院

栗秋ユミ子, 加藤聖子, 上岡陽亮, 堀内新司, 寺尾泰久, 西田純一, 鶴地伸宏, 和氣徳夫

【目的】Rasのタイプにより、下流シグナルの選択が異なることが示唆されている。本研究では子宮体癌細胞の表現型にK-Ras或いはH-Rasを介するシグナル伝達がいかに関与するかを解析した。

【方法】1) H-Ras機能を不活化するドミナントネガティブ変異体(H-Ras57Y)発現アデノウィルス子宮体癌細胞株Ishikawa細胞(野生型Rasを発現)、HHUA細胞(活性型12Val K-Rasを発現)及びHOUA細胞(活性型12Val K-Rasを発現)へ感染させ、増殖能、コロニー形成、アポトーシス、アポトーシス関連蛋白発現の変化を検討した。2) Ishikawa細胞へ活性型12Val K-Rasを形質導入し、表現型の変化を検討した。3) HHUA細胞へ活性型61Leu H-Rasを形質導入し、表現型の変化を検討した。4) 同細胞へアデノウィルス感染或いはPI3K遮断剤を添加し、表現型の変化を検討した。

【成績】1) H-Ras 57Yにより3株全に増殖能及びコロニー形成能の顕著な抑制、アポトーシスの誘導及びBcl-2蛋白発現抑制を認めた。2) 活性型12Val K-RasはIshikawa細胞の増殖・腫瘍能を亢進したがアポトーシスも誘導した。4) 活性型K-Ras存在下での活性型H-Rasの形質導入は細胞増殖の亢進を導いた。さらにPI3K遮断剤やH-Ras57Yにより誘導されるアポトーシスを抑制した。

【結論】子宮体癌細胞におけるK-Ras或いはH-Rasを介するシグナルは共に細胞増殖能を亢進した。しかしK-Rasシグナルはアポトーシスの誘導に、H-Rasシグナルはその回避に機能した。