

## 3-22 Pregnane X Receptor の子宮体癌における発現とその役割

岡山大学

増山 寿, 児玉順一, 水谷靖司, 平松祐司

【目的】エストロゲン (E) は子宮体癌の生物学的動態に深く関与しており, 腫瘍組織内での E 代謝も重要な役割を果たしていると考えられている。一方, 新しい核内受容体である Pregnane X Receptor (PXR) はそのリガンドとして E などの内因性ステロイドホルモンや薬剤, 内分泌攪乱物質 (EDC) などの xenobiotics が, また制御遺伝子としてこれらステロイドや xenobiotics の代謝に深く関与している代謝酵素 cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) が知られている。今回, 我々は子宮体癌における PXR や CYP3A4 の発現とその役割について検討した。【方法】RT-PCR 法や免疫組織染色法を用いて患者の同意を得た子宮体癌43症例で PXR や CYP3A4 の発現を調べ, PXR と CYP3A4, estrogen receptor (ER) や progesterone receptor (PR) との相関を検討した。次に子宮体癌由来 HEC-1細胞と Ishikawa 細胞での PXR, ER 及び PR の発現を調べ, これらの細胞を用いて PXR に対するリガンドの PXR を介した転写や CYP3A4 発現への影響を検討した。【成績】子宮体癌症例での PXR の発現は, labeling index にて 0-100% まで様々であった。また PXR は CYP3A4 と正の相関を示し, ER とは負の相関を示した。HEC-1細胞では ER, PR 低発現, PXR 強発現であったが, Ishikawa 細胞では ER, PR 高発現, PXR 低発現であった。リガンドである E や EDC を投与すると HEC-1細胞では Ishikawa 細胞に比し PXR を介した転写及び CYP3A4 発現が強く誘導された。【結論】PXR は, その target gene である CYP3A4 の発現制御を介して子宮体癌組織内でのステロイド・xenobiotics 代謝に関与していると考えられ, 女性ホルモンや EDC の ER 低発現子宮体癌への作用機序の一つとして重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 3-23 子宮内膜癌細胞のエストロゲンによる増殖促進に IGF-1 オートクリン/パラクリン刺激による MAPK 経路の活性化が関与する

信州大学

鹿島大靖, 塩沢丹里, 宮本 強, 内川順子, 小西郁生

【目的】MAPK (mitogen-activated kinase) のうち古典的 Erk1/2 経路は細胞内シグナル伝達の中心的存在であるが, エストロゲンの細胞増殖促進における役割は不明である。そこで正常内膜および内膜癌の増殖機序における Erk1/2 の関与について解析した。【方法】1) 同意を得て採取した正常内膜18例, 内膜癌20例について Erk1/2 と活性化型 Erk1/2 (pErk1/2) 発現を免疫染色にて検討した。2) 内膜腺上皮培養細胞および内膜癌細胞株 (Ishikawa) の estradiol (E2) 刺激による Erk1/2 発現と活性化を Western blot 法にて検討し, 細胞周期調節因子発現と比較した。E2 による増殖促進は S 期分画増加で確認した。3) 内膜癌細胞の E2 刺激で誘導される増殖因子検索から IGF-1 が見出されたため, E2 添加後の IGF-1 mRNA 発現 (RT-PCR 法) と IGF-1 添加後の Erk1/2 活性化を解析した。【成績】1) 正常内膜の Erk1/2 発現は性周期を通じて観察されたが, pErk1/2 は増殖期で強く分泌期で減弱した。内膜癌では全例で Erk1/2, pErk1/2 発現が増強していた。2) 正常腺上皮細胞では E2 添加4時間後に cyclin D1 が発現したが pErk1/2 は検出されなかった。内膜癌細胞では E2 添加4時間後に pErk1/2 が出現し, 6時間後に cyclin E 発現が増加した。この Erk1/2 活性化は ICI182,780 添加で抑制された。3) 内膜癌細胞で E2 添加6時間後に IGF-1 mRNA 発現が増加し, IGF-1 添加15分後に pErk1/2 が出現した。【結論】子宮内膜癌細胞では E2 刺激により Erk1/2 が活性化され IGF-1 mRNA 発現が誘導されること, また IGF-1 刺激直後に Erk1/2 が活性化されることから, エストロゲンによる増殖促進機序に IGF-1 のオートクリン/パラクリン刺激を介した MAPK の活性化が関与している可能性が初めて示唆された。

## 3-24 子宮体癌における SAHA の細胞増殖抑制・アポトーシス誘導効果

大分大<sup>1</sup>, カリフォルニア大ロサンゼルス校腫瘍学<sup>2</sup>吉良さおり<sup>1</sup>, 高井教行<sup>1</sup>, 上田多美<sup>1</sup>, 奈須家栄<sup>1</sup>, Koefler H. Phillip<sup>2</sup>, 宮川勇生<sup>1</sup>

【目的】ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACIs) は, メチル化などで発現の抑えられた癌抑制遺伝子の転写を亢進させ, 細胞増殖を抑制する。しかし, HDACIs の代表である Butyrates や Trichostatin A は, ヒトに対して有害な副作用を持つ。Suberoyl anilide bishydroxamine (SAHA) は, phase I study でヒトに対する安全性が認められた新しい HDACIs である。そこで SAHA が子宮体癌に対して有効かどうかを検討した。【方法】6つの子宮体癌細胞株に対して, 各種濃度の SAHA を投与し, soft agar colony formation assay で in vitro の細胞増殖抑制効果を検討して ED<sub>50</sub> を決定した。Flow cytometry で SAHA 投与前後の細胞周期の変化を比較した。また, TUNEL 法で SAHA 添加により apoptosis に陥った細胞数を検討した。更に, クロマチン免疫沈降法後の PCR でアセチル化ヒストン H3 と H4 における p21<sup>WAF1</sup> (cyclin dependent kinase inhibitor) のプロモーター領域の増幅を確認した。【成績】SAHA は検討した全ての子宮体癌細胞株に対して著明な細胞増殖抑制効果を有していた。ED<sub>50</sub> は, 7.8 × 10<sup>-7</sup> M ~ 3.1 × 10<sup>-6</sup> M であった。Ishikawa 細胞では, 10 ± 7% であった G2/M 期の細胞が SAHA 投与により 60 ± 5% と増加する G2 arrest が認められた。Apoptosis に陥った細胞は, 未刺激の Ishikawa 細胞では 3 ± 1% であったが, SAHA 刺激により 42 ± 11% と著明に増加した。SAHA によりアセチル化したヒストン H3 と H4 における p21<sup>WAF1</sup> のプロモーター領域の増幅は, SAHA を投与していないものと比較して12倍に増強した。【結論】SAHA は子宮体癌に対して著明な抗癌作用を有し, その機序として p21 の転写亢進を伴う細胞周期の抑制, apoptosis の誘導などが考えられた。