

P1-169 癌抑制遺伝子 BRCA1 と相互作用する新規複合体 TRRAP/hGCN5 の機能解析

東京大

大石 元, 矢野 哲, 和田 修, 大須賀穰, 武谷雄二

【目的】癌抑制遺伝子 BRCA1 は家族性乳癌・卵巣癌の原因遺伝子であり, DNA 修復・転写制御などに関連し, エストロゲンレセプター a (ERa) と相互作用するが, その機能は不明である. 本研究では, 家族性乳癌で変異の頻発する BRCA1 の転写活性化領域 (BRCT) と相互作用する因子の機能を解析した. 【方法】HeLa S3 細胞培養系より核タンパクを調整し, BRCT と結合するタンパク複合体を精製し, TOF-MS 法により同定した. タンパク間結合は GST pull down 法, 免疫沈降法, Far Western 法を用いて検討した. BRCT の転写活性化能は, プラスミドを MCF-7 細胞に導入しルシフェラーゼ活性の測定により検討した. DNA 修復能は, プラスミドを導入した HCC1937 (BRCA1 変異乳癌細胞株) 培養系に DNA 傷害性物質 MMS を添加し生細胞数を測定することにより検討した. 【成績】1) ヒストンアセチル化複合体である TRRAP/hGCN5 に MSH2/MSH6 を含む新規複合体が精製された. 2) 野生型 BRCT と TRRAP/hGCN5/MSH2/MSH6 複合体は TRRAP を介して結合し, 乳癌家系でみられる点変異型 BRCT は TRRAP と結合しなかった. 3) BRCT の転写活性化能は, TRRAP/hGCN5/MSH2/MSH6 複合体存在下でより増強した. また ERa の転写活性化能は E2 存在下で BRCA1 により抑制されるが, TRRAP/hGCN5 を強制発現させると抑制が解除された. 4) HCC1937 細胞において, RNAi 法により TRRAP, hGCN5, MSH2 各因子の発現を抑制すると BRCA1 を介した DNA 修復能が阻害された. 【結論】BRCA1 と TRRAP/hGCN5/MSH2/MSH6 複合体の結合は, BRCA1 の転写制御および DNA 修復の両機能に必要である. また, BRCA1 が ERa のリガンド依存的な転写活性化を抑制するうえで, この複合体との結合が重要である.

P1-170 酢酸メドロキシプロゲステロンの乳癌細胞に対する増殖促進のメカニズム山形大¹, 大阪大²齋藤真紀¹, 川越 淳¹, 高橋一広¹, 手塚尚広¹, 小島原敬信¹, 早坂 直¹, 大道正英², 倉智博久¹

【目的】黄体ホルモンは乳癌細胞に対し, 短期的には増殖を促進することが報告されているが, その作用機序については解明されていない部分も多い. 今回我々は, 酢酸メドロキシプロゲステロン (MPA) のヒト乳癌細胞増殖促進作用の機序を解析した. 【方法】プロゲステロンレセプター (PR) を有する T47D 細胞を用い MPA を投与して以下の実験を行った. 1) 細胞増殖は, trypan blue exclusion test を行い生細胞数をカウントした. 2) 細胞増殖に関与する cyclin D1, および生存シグナルである Akt に対する MPA の効果を, western blotting で解析した. 3) MPA による cyclin D1 発現促進に PI3-kinase/Akt/NFkB 経路が関与するか否かを, PR の選択的阻害薬 (RU486), PI3-kinase の阻害剤 (wortmannin), IkBa のリン酸化阻害剤 (BAY 11-7085), NFkB の核内移行阻害剤 (SN-50) を用いて, 各阻害剤が cyclin D1 の発現に及ぼす影響を western blotting で解析した. 【成績】1) 2 日間の培養を通じ MPA は T47D の増殖を促進し, その作用は RU486 で抑制された. 2) MPA は cyclin D1 の発現および Akt のリン酸化を促進した. 3) RU486, wortmannin, BAY11-7085, SN-50 は MPA により促進される cyclin D1 の発現を抑制した. 【結論】ヒト乳癌細胞において, MPA による増殖促進と cyclin D1 の発現促進機序のひとつとして, PI3-kinase/Akt/NFkB 経路が関与していることが示唆された.

P1-171 婦人科癌に特異的に発現する糖鎖抗原 extended core 1 と転移能との関連

慶應大

鈴木 淳, 青木大輔, 進 伸幸, 鈴木 直, 福地 剛, 玉田 裕, 山上 亘, 吉村泰典, 野澤志明

【目的】ヒトモノクローナル抗体 HMMC-1 は婦人科癌に特異性が高く, 認識抗原は O-結合型糖鎖 (extended core 1) で, その構造は $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 2\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 3\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\alpha 1$ であり, その発現には糖転移酵素の core 1 $\beta 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}$ 転移酵素 (C1 $\beta 1 \rightarrow 3\text{GnT}$) が key enzyme であることが判明している. extended core 1 はこれまでリンパ節内の高細静脈内皮細胞のみでの発現しか報告されているにすぎない希有な糖鎖構造であったが, 婦人科癌に発現が認められることから培養細胞における HMMC-1 認識抗原の発現を検討し in vivo で転移との関連を検討した. 【方法】20 種類の婦人科癌由来の細胞株における C1 $\beta 1 \rightarrow 3\text{GnT}$ mRNA と HMMC-1 認識抗原の発現をそれぞれ RT-PCR 法と western blot 法によって検討した. さらに, HMMC-1 認識抗原を発現していた子宮体癌細胞株 Hec1A, SNG-II, SNG-S を用いてヌードマウス子宮内移植後の転移能を検討した. 【成績】RT-PCR 法の結果 C1 $\beta 1 \rightarrow 3\text{GnT}$ mRNA は 18 種類の細胞株で発現が認められたが, HMMC-1 認識抗原の発現は 5 種類の細胞株のみに認めた. さらに Hec1A を用いた検討では in vivo にて高転移性の亜株は低転移性の亜株に比べ HMMC-1 認識抗原のより強い発現を認めた. 一方, SNG-II の亜株で HMMC-1 認識抗原をより強く発現している SNG-S は SNG-II に比べ肝臓やリンパ節へ高頻度に転移した. 【結論】婦人科癌に特異的に発現する extended core 1 構造は腫瘍の転移を促進している可能性が示唆された.