

P2-31 子宮内膜癌における RUNX3 の関与

大阪大

吉崎達郎, 榎本隆之, 上田 豊, 岡澤美佳, 中畠竜一, 三宅貴仁, 藤原和子, 吉野 潔, 村田雄二

【目的】子宮内膜の癌化に伴う RUNX3 のジェネティックおよびエピジェネティックな変化を解析し, その関与を明らかにする. 【方法】インフォームドコンセントを得た内膜癌 21 例, 対照として婦人科疾患 11 例の正常内膜および内膜癌細胞株 3 種 (HHUA, HOUA, HEC-1) について, RT-PCR 法により RUNX3 の m-RNA 発現を解析した. LOH を RUNX3 近傍の 3 つのマикроサテライトマーカー (D1S199, D1S507, D1S1676) を用いて検出した. RUNX3 プロモーター領域における CpG アイランドのメチル化の状態を, メチル化特異的 PCR 法にて解析した. 【成績】内膜癌 21 例中 10 例 (52%) に RUNX3 の発現消失が認められたのに対し, 正常内膜 11 例中 8 例 (72%) に発現の消失を認めた. 内膜癌細胞株 3 種全てにおいて RUNX3 の発現は消失していた. 内膜癌 21 例中 8 例 (38%) に RUNX3 領域の LOH を認めた. 内膜癌細胞株 3 種中全て, 内膜癌 21 例中 18 例 (86%) に RUNX3 プロモーター領域 CpG アイランドの過剰メチル化を検出したのに対し, 対照群では 9 例中 2 例 (22%) に過剰メチル化を検出した. 【結論】子宮内膜の癌化に RUNX3 の不活化が関与していることが示唆された. RUNX3 の不活化にはプロモーター領域 CpG アイランドのメチル化および RUNX3 領域の LOH が関係していることが推定された.

P2-32 子宮内膜癌において Estrogen は Matrix Metalloproteinase (MMP) -26 の発現を亢進する

東京医大

西 洋孝, 芥川 修, 長壁由美, 藤東淳也, 井坂恵一

【目的】癌においては種々の Matrix Metalloproteinases (MMPs) 活性が亢進しているとされるが, 特に近年同定された MMP-26 は子宮内膜癌の発生に関与するとされる. 子宮内膜癌はエストロゲン (E) の作用により発生すると考えられているため, E が MMP-26 発現にいかなる作用を及ぼすかを検討することとした. 【方法】インフォームドコンセントを得て正常子宮内膜・子宮内膜増殖症・子宮内膜癌組織を採取し, realtime RT-PCR 法や western blot 法にて MMP-26 mRNA・タンパクの発現量を調べた. コンピューター解析により, 転写因子エストロゲンレセプター (ER) の結合領域 (ERE) が MMP-26 プロモーター上に存在することが判明したため, エストラジオール添加および ER 強制発現による MMP-26 プロモーター活性の変化を, 子宮内膜癌細胞株 ISHIKAWA を用いルシフェラーゼアッセイをもって調べた. また, エストラジオール添加による MMP-26 の発現量の変化を検討した. ER と ERE の結合能はゲルシフトアッセイを行い調べた. 【成績】MMP-26 の発現は増殖期内膜において亢進し, 分泌期において低下していた. 子宮内膜増殖症における MMP-26 は強発現であったが, 癌においてはその発現はほぼ消失していた. エストラジオール添加および ER 強制発現により, MMP-26 のプロモーター活性のみならず内因性の MMP-26 発現も亢進した. ゲルシフトアッセイにより ER は MMP-26 プロモーター上の ERE と結合することが判明した. 【結論】MMP-26 の発現が転写因子 ER を介し E に依存していることが明らかとなった. E や MMP-26 が子宮内膜増殖症の発生に深く関わることを示唆されたが, E は少なくとも MMP-26 を通じた子宮内膜の癌化には関わらないのかもしれない.

P2-33 子宮内膜癌に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の抗癌作用

大分大

上田多美, 高井教行, 西田正和, 奈須家栄, 宮川勇生

【目的】ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (Histone deacetylase inhibitors; HDACI) 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, 細胞周期を停止させ, アポトーシスを誘導させることにより癌細胞の増殖を抑制する. そこで, 子宮内膜癌細胞株に対する 5 種類の HDACI (suberoylanilide hydroxamic acid, valproic acid, trichostatin A, sodium butyrate, apicidin) の抗癌作用を検討した. 【方法】子宮内膜癌細胞株 (Ishikawa) に 5 種類の HDACI を添加し, MTT assay で細胞増殖抑制効果を検討した. Flow cytometry で細胞周期とアポトーシスの割合の解析を行った. また, western blotting 法で細胞周期関連蛋白とアポトーシス周期関連蛋白の発現を検討した. 【成績】全ての HDACI は子宮内膜癌細胞株に対して著明な細胞増殖抑制効果を示した. 細胞周期を解析したところ, HDACI 投与により G0/G1 arrest または G2/M arrest が認められた. Apoptosis に陥った細胞は, すべての HDACI の刺激により有意に増加した. HDACI 投与により, cyclin dependent kinase inhibitor である p21^{WAF1} と p27^{KIP1} の発現は亢進した. 逆に, cyclin D1 と cyclin D2 の発現は減弱した. Apoptosis 抑制蛋白である bcl-2 は HDACI により発現レベルは低下したが bax の発現は変化しなかった. β -catenin と結合して癌抑制遺伝子として働く E-cadherin は HDACI により発現が増強した. 【結論】HDACI は子宮類内膜癌細胞株に対し強力な細胞増殖抑制効果を有し, 細胞周期を停止させ, アポトーシスを誘導することが示された.