

P2-34 子宮内膜腺癌細胞に対する小柴胡湯のミトコンドリア経路を介したアポトーシス誘導による抗腫瘍効果

大阪医大

森島祥子, 後山尚久, 山下能毅, 大槻勝紀, 植木 實

【目的】ER β 反応陽性の子宮内膜腺癌培養細胞株における漢方薬である小柴胡湯の抗腫瘍効果について細胞死の観点より解析した。【方法】通常の培養方法で細胞を増やした後小柴胡湯を含むステロイドフリーにした培地で以下の実験を行った。培養子宮内膜腺癌細胞に WST-1 を添加し、ミトコンドリア代謝機能を検討した。また JC-1, annexin を添加によりミトコンドリアの膜電位変化, およびアポトーシス細胞における細胞膜変化を検討した。さらに F75 フラスコで培養した細胞に JC-1, annexin を添加しフローサイトメーターを用い解析した。【成績】小柴胡湯投与により細胞死が濃度依存的に見られ 48 時間後 1.2% で 40% 1.8% で 60% の細胞死が見られた。annexin/PI の二重染色で PI 陰性 annexin 陽性の細胞が小柴胡湯 1.8% の濃度勾配にて増加した。また蛍光顕微鏡にて赤/緑の蛍光の比率が低下し 48 時間後の cont 0.4% 1.2% 1.8% の濃度勾配を作ったが濃度依存的にミトコンドリア膜電位の低下が観察された。それらをフローサイトメーターを用いて解析した結果試薬添加群で 13.8% 27.6% 51.7% と正の相関性がみられた。WST1 添加系で小柴胡湯の投与により細胞の増殖能はエストロゲン投与で拮抗された。【結論】小柴胡湯投与により子宮内膜腺癌にアポトーシスが誘導され、シグナル伝達経路はミトコンドリア経路によることが明らかになった。また、エストロゲン投与によってアポトーシスが抑制されたことより、小柴胡湯の抗腫瘍効果は抗エストロゲン作用も関与することが示唆された。

5 日(火)
一般演題**★P2-35** 子宮体癌移植 SCID マウス血清を用いた SEREX 法により同定した癌抗原 KU-EM2 の解析

慶應大

平尾薫丸, 久布白兼行, 岩田 卓, 阪埜浩司, 藤井多久磨, 進 伸幸, 青木大輔, 塚崎克己, 吉村泰典, 野澤志朗

【目的】癌免疫療法では腫瘍特異抗原の同定が重要である。SEREX 法 (Serological Analysis of Recombinant cDNA Expression Libraries) は抗体の認識抗原を同定する方法で、本法で得られた抗原の多くが樹状細胞療法などの癌免疫療法に臨床応用されている。SCID マウスに腫瘍片を移植すると腫瘍とともに患者の免疫細胞が生着しヒト型抗体が産生され、患者に代えてマウスの血清を SEREX 法に用いることで、より癌に対する免疫応答に関与した抗原を単離しうる可能性がある。我々は SEREX 法により子宮体癌移植 SCID マウス血清中のヒト型抗体が認識する癌抗原を同定した。【方法】(1) 体癌組織移植 SCID マウス血清と 3 種の体癌由来の細胞株 (SNG-II/Ishikawa/HEC-IB) から作成した cDNA ライブラリーを用いた SEREX 法により、マウス血清中のヒト型抗体が認識する抗原を同定した。(2) データベース上で候補抗原の特徴を予測し、RT-PCR 法で正常組織/癌細胞株/体癌組織で発現様式を検討した。(3) 合成ペプチドを用いて抗体を作製し、体癌での発現を免疫組織化学染色で検討した。本研究は倫理委員会で承認され検体採取は書面での同意を得た。【成績】(1) 50 万クローンをスクリーニングし、15 種の抗原を同定した。(2) このうち KU-EM2 はデータベース上の予測で膜貫通領域を有し、RT-PCR 法では精巢以外の正常組織で発現を認めない一方、体癌/卵巣癌/メラノーマなど各種癌細胞株で高頻度に発現を認める癌抗原であった。(3) 体癌組織で KU-EM2 蛋白質が癌細胞膜上に染色された。【結論】体癌移植 SCID マウス血清中のヒト型抗体が認識する癌抗原 KU-EM2 を同定した。KU-EM2 は腫瘍特異的な発現様式を示し、癌細胞膜上に局在すると考えられた。

P2-36 子宮体癌における Human kallikrein 7 (hk7/SCCE) とそのインヒビター Antileukoprotease (ALP/SLPI) の発現

広島大

平田英司, 重政和志, 谷 麗君, 小松正明, 温泉川真由, 楠田朋代, 白山裕子, 永井宣隆, 工藤美樹

【目的】癌の増殖, 進展に関与する分泌型セリンプロテアーゼ Human kallikrein 7 (hk7/SCCE) とその特異的インヒビター Antileukoprotease (ALP/SLPI) に着目し、子宮体癌における発現を検討した。【方法】当科で手術療法を施行し、同意の得られた子宮体癌 108 例と正常子宮内膜 17 例を対象として hk7 と ALP の免疫組織化学的発現を検索し、臨床病理学的因子との関連を検討した。判定基準は癌細胞の 10% 以上の染色を陽性, 25% 以上を強陽性とした。統計処理は χ^2 検定および Fisher の直接確率を用い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありとした。生存分析は log rank 検定および回帰モデルによる多変量解析を行った。また体癌 10 例と正常内膜 5 例について mRNA を抽出、cDNA を精製し、RT-PCR 法により、hk7 および ALP mRNA の発現を検討した。【成績】免疫組織化学的検討により、hk7 は正常内膜の 47.2% (8/17)、体癌の 52.7% (57/108) に発現し、ALP は正常内膜の 5.9% (1/17)、体癌の 53.7% (58/108) に発現していた。hk7 と ALP の過剰発現は正の相関関係が認められ ($p = 0.03$)、さらに、臨床進行期の進行に伴って、ALP 優位から hk7 優位に発現が変化していることが観察された ($p = 0.04$)。多変量解析にて年齢、分化度、hk7 発現、ALP 発現と生存率の間には関連性は認められず、臨床進行期のみが有意な独立予後良好因子であった ($P = 0.02$)。また RT-PCR 法により、正常内膜、体癌組織ともに hk7 および ALP mRNA の発現があることを確認した。【結論】子宮体癌においてセリンプロテアーゼ hk7 とそのインヒビター ALP の発現を認めた。またこれら二つの関係は子宮体癌の増殖・進展に重要な役割を示し、子宮体癌のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。