

P2-85 卵巣癌におけるアミノ酸トランスポーター LAT1 の生理的意義

杏林大

嘉治真彦, 塩川滋達, 酒井啓治, 杉原一廣, 岩下光利

【目的】悪性腫瘍は、急速に上昇した細胞内代謝を維持するために糖やアミノ酸の細胞内への取り込みが亢進しており、その機能を抑制することにより腫瘍増殖を制御できる可能性が示唆されている。必須アミノ酸の細胞内への取り込みを担当する System L amino acid transporter LAT1 (L-type amino acid transporter 1) は、多くの悪性腫瘍細胞表面に高発現し腫瘍増殖に関与すると推測されるが卵巣癌に関しては不明なことが多い。今回卵巣癌培養細胞を用いて LAT1 の発現およびその生理的意義について検討をした。【方法】ヒト卵巣癌腹水由来の培養細胞である OVCAR3 を用いて以下の実験を行った。抗 LAT1 抗体を用いて OVCAR3 細胞を蛍光免疫染色した。OVCAR3 細胞増殖能は bromodeoxyuridine (BrdU) の増殖細胞内への取り込みを見る cell proliferation assay, 細胞移動能は 48 時間後の細胞移動数を顕微鏡下に測定する migration assay を用いた。それぞれの実験系に System L amino acid transporter 抑制薬である 2-aminobicyclo- (2, 2, 1) -heptane-2-carboxylic acid (BCH) を添加し測定した。【成績】蛍光染色で OVCAR3 細胞表面に LAT1 の発現が確認された。BCH は濃度依存性に OVCAR3 の有意な増殖および移動能の抑制効果を示した。増殖能(コントロール群; $100 \pm 10\%$, BCH 1mM; $62 \pm 5\%$, BCH 10mM; $54 \pm 2\%$, BCH 20mM; $50 \pm 1\%$), 移動能(コントロール群; $100 \pm 11\%$, BCH 1mM; $54 \pm 12\%$, BCH 10mM; $19 \pm 8\%$, BCH 20mM; $7 \pm 4\%$)【結論】OVCAR3 細胞表面には LAT1 が発現し、LAT1 は OVCAR3 の増殖と移動を制御している可能性が示唆された。

P2-86 卵巣癌細胞におけるエストロゲンとラロキシフェンの分子制御機構の違い

大阪大

佐々木浩, 早川 潤, 大道正英, 野田穂寿美, 久本浩司, 坂田正博, 田坂慶一, 村田雄二

【目的】組織特異的にエストロゲン (E2) 作用を有するラロキシフェンは骨芽細胞を促進し、乳癌細胞を抑制することが知られており、近年、閉経後骨粗鬆症の治療として使用され、また乳癌の予防薬としても注目されるようになった。しかし卵巣におけるラロキシフェンの働きは不明である。そこで我々は卵巣癌におけるラロキシフェンの影響を検討した。【方法】エストロゲンレセプター (ER) 陽性卵巣癌細胞株、陰性株、ER 強制発現細胞株を対象とした。E2 およびラロキシフェンを投与したときのエストロゲン標的遺伝子 (c-Myc, IGF-1 など) の mRNA の発現レベル、プロモーター領域における co-regulator のリクルートを real time PCR, ChIP assay を用いて検索した。リクルートしている co-regulator を siRNA を用いて抑制したときの mRNA の発現レベルおよび細胞増殖を real time PCR, Flow Cytometer を用いて検討した。【成績】ER 陽性卵巣癌細胞株に E2 を投与すると c-Myc および IGF-1 の mRNA の発現レベルが上昇しラロキシフェンを投与すると低下した。E2 を投与すると co-activator である SRC-1 が c-Myc, IGF-1 のプロモーター領域にリクルートしていた。SRC-1 を抑制すると E2 による c-Myc, IGF-1 の発現は抑制された。ラロキシフェンを投与すると co-repressor である NCoR, SMRT が IGF-1 のプロモーター領域でリクルートしていた。NCoR, SMRT siRNA を用いて抑制しラロキシフェンを投与するとその mRNA の発現抑制は解除された。【結論】卵巣癌における E2, ラロキシフェンの投与したときの作用機序はエストロゲン標的遺伝子のプロモーター領域での co-activator である SRC-1 や co-repressor である NCoR, SMRT のリクルートに依存することが示唆された。

P2-87 卵巣明細胞腺癌における PTEN の発現大阪市立住吉市民病院¹, 大阪市立総合医療センター²橋口裕紀¹, 津田浩史², 延山裕之¹, 福益 博¹, 中村哲生¹, 迫 久男¹

【目的】卵巣明細胞腺癌 (OVCC) は、抗癌剤に対し抵抗性を示し、予後不良とされる。一方、癌抑制遺伝子のひとつである PTEN は、さまざまな腫瘍において発癌浸潤に関与するとされる。しかしながら OVCC についての報告はほとんどない。本研究では、OVCC における PTEN の発現について解析した。さらに、PTEN の下流遺伝子とされる cyclin D1 と p27 の発現についても解析を加え、PTEN の発現との関連についても検討した。【方法】対象は OVCC40 例 (1 期 21 例, 2 期 6 例, 3 期 11 例, 再発 2 例)。PTEN, cyclin D1 および p27 の免疫組織染色を施行した。PTEN, cyclin D1 および p27 発現はそれぞれ染色率 5% 以上, 10% 以上, 50% 以上を陽性と判定した。【成績】OVCC40 例のうち 15 例 (37.5%) で、PTEN は陰性であった。PTEN の発現と進行期は相関しなかった。cyclin D1 発現および p27 発現の消失はそれぞれ 16 例 (40.0%), 14 例 (35.0%) に認めた。PTEN の発現と cyclin D1 および p27 の発現のあいだには、特に関連性を認めなかった。【結論】OVCC では比較的高頻度に PTEN 発現の消失を認めた。cyclin D1 および p27 の発現と PTEN 発現には関連性を認めなかった。