

### P1-106 子宮体癌における epidermal growth factor receptor, human epidermal growth factor receptor 2 遺伝子多型の解析

神戸大<sup>1</sup>, オックスフォード大<sup>2</sup>

北尾敬祐<sup>1</sup>, 吉田茂樹<sup>1</sup>, 小原範之<sup>1</sup>, スティーブンケネディー<sup>2</sup>, 竹村直也<sup>1</sup>, 杉本 誠<sup>1</sup>, 生橋義之<sup>1</sup>, 天野真理子<sup>1</sup>, 稲垣美恵子<sup>1</sup>, 出口雅士<sup>1</sup>, 丸尾 猛<sup>1</sup>

【目的】epidermal growth factor receptor (EGFR), human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) は、共に ErbB 受容体ファミリーに属し、その遺伝子過剰発現が子宮体癌組織で報告されたことから、両遺伝子が子宮体癌発症に関与する可能性が示唆されている。種々の癌と EGFR, HER2 遺伝子多型との相関が報告されているが、子宮体癌における両遺伝子多型を検討した報告はこれまでみられない。そこで、日本人子宮体癌症例において EGFR と HER2 遺伝子多型を解析し、両遺伝子の子宮体癌発症への関与を遺伝疫学的に検討した。【方法】日本人子宮体癌患者 116 例と健常コントロール群 213 例を対象とし、本学倫理委員会の承認のもと、インフォームドコンセントを得た対象者の血液から GenomicDNA を抽出した。EGFR (+2073A/T), HER2 (+655A/G) の両遺伝子多型は PCR-RFLP 法を用いて解析し、各遺伝子多型分布と対立遺伝子出現頻度を両群間で比較した。さらに、Kaplan-Meier 法により各遺伝子多型の無病生存率を推定し、両遺伝子多型が本疾患の予後に与える影響を検討した。【成績】EGFR (+2073A/T), HER2 (+655A/G) 遺伝子多型分布ならびに対立遺伝子出現頻度は、両群間で有意な差を認めなかった (EGFR,  $p=0.55$ ; HER2,  $p=0.66$ )。また、病理組織別、進行期別に同様の検討を行ったが、有意な差を認めなかった。さらに、各遺伝子多型の無病生存率も両群間で有意な相関を認めなかった。【結論】EGFR および HER2 遺伝子多型と子宮体癌発症との間に有意な相関を認めなかったことから、日本人では EGFR および HER2 遺伝子は子宮体癌発症に関与していない可能性が示唆された。

### P1-107 Progesterone による子宮内膜癌増殖抑制に関わるシグナル伝達系の同定

金沢大<sup>1</sup>, 佐々木研究所附属杏雲堂病院<sup>2</sup>

坂口純子<sup>1</sup>, 京 哲<sup>1</sup>, 水本泰成<sup>1</sup>, 森 紀子<sup>1</sup>, 橋本 学<sup>1</sup>, 毎田佳子<sup>1</sup>, 高倉正博<sup>1</sup>, 三宅清彦<sup>2</sup>, 坂本 優<sup>2</sup>, 井上正樹<sup>1</sup>

【目的】乳癌と異なり、Progesterone (P4) は子宮内膜増殖に抑制的に作用するが、その分子メカニズムは多くが不明である。我々は子宮内膜上皮由来の不死化細胞および癌化細胞モデルを用いて、Progesterone-receptor (PR) を介する P4 の子宮内膜細胞増殖抑制メカニズムの解明を目的とした。【方法】正常子宮内膜上皮細胞に hTERT を導入した不死化細胞および不死化細胞に変異型 KRAS を導入した癌化細胞に PR $\beta$  を導入した安定発現細胞を作成し、P4 作用による in vitro, in vivo での細胞増殖変化を観察した。また発現量に変化のあった遺伝子群を cDNA Microarray にて抽出し、P4 により誘導される pathway をシグナル相関解析ソフトを用いて検討した。【成績】子宮内膜不死化細胞および癌化細胞に in vitro で P4 を作用させると 48 時間後より増殖抑制を認めた。癌化細胞をヌードマウスに皮下移植し埋込型 P4 ペレット投与すると有意に腫瘍増殖抑制を認めた。in vitro にて P4 処理群および未処理群の細胞間で発現量に変化のあった約 4000 遺伝子より signaling network analysis にて重要と考えられるシグナル伝達系を抽出した。中でも核内で細胞周期停止に作用する FOXO1A シグナル, TGF $\beta$  分泌能を制御する LTBP1 発現誘導シグナルなど、新規のシグナル伝達系を同定した。【結論】子宮体癌細胞株は時に PR 発現を有するが、多くは P4 に対する反応性を欠く。また PR 強制発現による実験系は細胞株の核型異常が実験結果の評価を困難にする。今回我々が用いた細胞では P4 による増殖抑制が忠実に再現され、しかも正常核型を有するため、PR-P4 による抑制機序解明に有用である。現在同定された新規シグナル伝達系の内膜癌治療薬への応用をも目指し検討を進めている。

### P1-108 新規 GHRH (growth hormone-releasing hormone) アンタゴニスト MZ-5-156 のヒト子宮内膜癌細胞株に対するアポトーシス誘導効果の検討

東京大

趙 琳, 矢野 哲, 大須賀穰, 中川俊介, 大石 元, 和田 修, 久具宏司, 武谷雄二

【目的】GHRH とその受容体は中枢のみならず末梢組織での発現が報告されている。新規 GHRH アンタゴニスト MZ-5-156 の子宮内膜癌細胞株 HEC-1A に対する直接的増殖抑制効果とそのメカニズムについてアポトーシスの観点より検討した。【方法】1) HEC-1A における GHRH, および GHRH 機能性受容体としてその splice variant (SV1) の mRNA の発現を RT-PCR 法により解析した。2) HEC-1A 培養系に MZ-5-156 0.1nM~1 $\mu$ M を添加し、48 時間後 MTS 取り込み法により細胞数を測定した。3) 1 $\mu$ M 添加 48 時間後のアポトーシス細胞の出現頻度を Flow cytometry, Hoechst33342 染色により解析した。4) アポトーシス誘導系として phospho-p53 (Ser46) とその標的遺伝子 p53AIP1, および Fas/Fas リガンドシステム-Caspase カスケードにおける Fas と caspase3, またアポトーシス抑制系として Bcl-2 の蛋白発現量を Western blot 法により検討した。【成績】1) HEC-1A 細胞に GHRH および GHRH SV1 受容体 mRNA の発現が認められた。2) MZ-5-156 は細胞増殖を有意に抑制した。3) 晩期アポトーシス細胞数は 15.8% 増加し、細胞核凝縮・アポトーシス小体を認めるアポトーシス細胞は 21.2% 増加した。4) phospho-p53, p53AIP1, Fas, cleaved-caspase3 の蛋白発現量は各々 38.5%, 33.7%, 28.6%, 30.1% 増加したが、Bcl-2 は 38.4% 減少した。【結論】GHRH アンタゴニスト MZ-5-156 によるヒト子宮内膜癌細胞に対する直接的増殖抑制効果が認められた。このメカニズムの一つとして、p53, p53AIP1, Fas, caspase3 の活性を増強し Bcl-2 の活性を減少することによりアポトーシスが誘導されることが示唆された。