

K2-34 ヒト正常卵巣表層上皮細胞を用いた上皮性卵巣癌の発癌機構の解析

熊本大

佐々木瑠美, 田代浩徳, 大竹秀幸, 片淵秀隆

【目的】上皮性卵巣癌(卵巣癌)の発生母細胞は一層の卵巣表層上皮(OSE)細胞と考えられているが,前癌状態から癌化に至る過程は明らかではない。これまでに樹立された不死化OSE細胞株では,卵巣癌の発癌に直接関与しないHPVのE6/E7あるいはSV40LT等のviral oncogeneが用いられてきた。今回,われわれはこれらを用いずに卵巣癌で報告されている遺伝子変異や増幅を正常OSE細胞に再現することで発癌過程を解明することを目的とした。【方法】患者(48歳,子宮頸癌Ia1期)の同意を得て正常OSE細胞を採取し,この細胞にretrovirus vectorを用いてmutant CDK4, cyclinD1ならびにhuman telomerase reverse transcriptase(hTERT)の導入を行い新たな不死化細胞株の樹立を行った。さらに,この細胞に種々の遺伝子を追加導入し,軟寒天培地における足場非依存性の増殖能,ヌードマウスにおける造腫瘍能の獲得について検討を行った。【成績】先の導入によって染色数と核型に異常が認められず,かつ正常OSE細胞の形質を保持した新規の不死化細胞株を樹立した。この細胞株にdominant negative p53, mutant Krasを導入した細胞では足場非依存性の増殖能はみられるが,造腫瘍能は認められなかった。しかし,この細胞に活性化型Aktを単独,もしくはc-mycとbcl-2を追加導入することで足場非依存性の増殖能と造腫瘍能を獲得した。【結論】Viral oncogeneを用いずに初めてOSEを不死化することに成功した。さらに,卵巣癌において比較的高頻度に変異・増幅が観察されるKras, Akt, c-myc等の異常を不死化OSE細胞株に導入することにより腫瘍形成が得られ,発癌には多段階の遺伝子変化の蓄積が必要であることが示された。

K2-35 390組の母子における骨格(体格・骨密度)指標とライフスタイルとの相関について

東京女子医大

黒田龍彦, 尾上佳子, 宮原優子, 吉形玲美, 折戸征也, 酒井牧知子, 春名由美子, 岡野浩哉, 太田博明

【目的】我々は骨粗鬆症の発症予防のためコホートを構築し,ライフスタイルの介入による若年期での高骨密度(BMD)獲得の方法論を検討している。これまでの研究でBMDは食生活や運動習慣に影響を受けることが判明している。そこで今回,母子間の体格や骨密度の骨格指標に及ぼすライフスタイルの影響について検討した。【方法】女子中学・高校生(12~18歳)を対象に構築したコホート(n=630)において,母親の情報も取得しえた母子390組を対象とした。出生時体重・週数,初経年齢を調査し,現在の骨格指標として身長,体重および腰椎BMDを測定した。またライフスタイルとして栄養素摂取量と食習慣をDHQにより,身体活動状況をJALS-PAQにより調査した。骨格指標は年齢の影響を受けるためZ-scoreにて評価した。【成績】生徒の平均年齢は14.6±1.8歳,母親は46.0±4.0歳であり,出生時週数・初経年齢は生徒が有意に(p<0.01)早かった。身長,体重,腰椎BMDは母子間で有意な(p<0.01)正の相関が認められた。ライフスタイルでは各種栄養素の摂取量および朝食の欠食回数は母子間で各々有意な(p<0.01)正相関が認められた。また,身体活動も母子間で有意な(p=0.01)相関性が認められ,母子共に運動を実施している対象者は未実施者に比し,腰椎BMDが有意に(母:p=0.028,子:p=0.021)高かった。【結論】栄養素の摂取量のみならず朝食欠食や身体活動に関するライフスタイルも母子間で極めて類似していることが判明した。生徒の運動実施の取組みは母親の実施状況と関連し,かつ腰椎BMDに影響することから,骨粗鬆症の世代を超えた発症予防には,家庭内におけるライフスタイルの取組みが重要であると考えられた。

K2-36 プロゲステロンによる子宮内膜癌の増殖抑制に関わる新たなメカニズムの同定金沢大¹, 佐々木研究所附属杏雲堂病院²京 哲¹, 坂口純子¹, 毎田佳子¹, 水本泰成¹, 橋本 学¹, 森 紀子¹, 生駒友美¹, 高倉正博¹, 三宅清彦², 坂本 優², 井上正樹¹

【目的】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。今回,このメカニズムの解明を試み,新規経路を見いだしたので報告する。【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さらに変異型KRASを導入して癌化させた細胞にPRbを安定発現させ,P4作用によるin vitro, in vivoでの細胞増殖変化をWST-assayおよびFACS解析にて観察した。Microarray解析によりシグナル伝達分子の同定を試み,siRNA阻害実験にてその作用を検証した。【成績】上記細胞に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。また癌化細胞をヌードマウスに皮下移植し埋込型ペレットにてP4投与すると腫瘍発育抑制を認めた。FACS解析ではこれらの増殖抑制はアポトーシスではなくG0/G1 arrestであった。Microarrayの解析にてP4処理で発現量に著明な変化のあった約250遺伝子をピックアップし,P4のシグナル伝達系に関与すると思われるフォークヘッド型転写因子FOXO1遺伝子を同定した。FOXO1発現はWestern解析ではP4により著明に誘導され,その局在は核内であった。この誘導はmRNAの上昇をとまなうもので,刺激後2~4時間より認められ,P4による直接作用と考えられた。FOXO1に特異的なsiRNAを発現させるとFOXO1の核内発現は著減し,P4による増殖抑制効果は効率的に阻害された。【結論】フォークヘッド型転写因子は,最近ではtumor suppressorとしての作用が注目されているが,今回の検討によりp4による子宮内膜増殖抑制をもたらす効果分子であると判明した。この上流のAKTシグナルの活性化状態がP4効果の予測因子となる可能性もある。