

MW-17-2 転移関連遺伝子模索のための新たな子宮肉腫肺転移モデルマウスの作製～分子イメージング法での病態解析～

福井大分子生体情報学¹, 福井大²
河邊真也¹, 山本 真², 森下史子², 吉田好雄²

【目的】子宮肉腫は、極めて予後不良の疾患であり、外科的に完全摘出した症例でも、半数以上に遠隔転移（主に肺）が生じる。転移機序は非常に複雑で不明な点が多いが、効果的な治療法開発のため、転移機序の解明は重要な研究課題である。本研究の目的は、子宮肉腫に対して、非侵襲的な分子イメージング法で検出可能な、臨床状態を反映した同所移植動物実験モデルの開発を行い、転移機序を検討することである。【方法】GFP 遺伝子を導入したヒト子宮肉腫由来 MES-SA 細胞株を樹立し、ヌードマウスへ皮下移植し、腫瘍形成後子宮へ同所移植し腫瘍を形成させた。腫瘍形成の検出は、GFP 蛍光イメージング・核酸代謝 PET イメージング (FLT-PET)・糖代謝 PET イメージング (FDG-PET) で検討した。また、同実験モデルを用いて高転移株と低転移株の樹立を試み、DNA マイクロアレイ解析で転移関連遺伝子を模索した。【成績】動物モデルでの腫瘍生成率は 66%、肺転移率は 87% であった。非侵襲的に FLT-, FDG-PET で腫瘍が検出可能であった。特に FDG-PET では、肺への FDG 集積のみならず原発巣への集積と肺転移との間に正の相関が認められた。また、DNA マイクロアレイ解析では、高転移株では分泌性のタンパク質の発現が増加し、細胞増殖シグナルに関する遺伝子の発現が抑制されていることが判明した。【結論】子宮肉腫の、非侵襲的な分子イメージング法で検出可能な、臨床状態を反映した同所移植動物実験モデルを確立した（特許申請番号：特願 2014-149007）。転移関連遺伝子プロファイリングでは、分泌性のタンパク質発現が、転移に重要であることが示唆された。

MW-17-3 癌胎児性蛋白 IMP3 発現は癌肉腫の予後と相関し、エピジェネティックな制御を受ける

川崎市立井田病院¹, 慶應大², 慶應大病理³, 星薬大病態生理⁴
植木有紗¹, 阪埜浩司², 小林佑介², 梅根紀代子², 増田健太², 中田さくら¹, 真杉洋平³, 清水孝恒⁴, 田中 守², 青木大輔²

【目的】マウス骨肉腫モデルを用いて癌胎児性蛋白 IMP3 が腫瘍の悪性度に寄与する事が報告されているが、臨床における癌肉腫との相関について検討した報告はない。今回は臨床検体を用いて子宮癌肉腫および子宮肉腫における IMP3 発現を確認し、その予後との関連や発現制御のメカニズムについて解析を行った。【方法】当施設の倫理委員会承認のもと癌肉腫 21 例、肉腫 10 例（平滑筋肉腫 4 例、子宮内膜間質肉腫 5 例、腺肉腫 1 例）を対象に、IMP3 蛋白発現を免疫組織化学にて解析し、予後との相関について検討した。次にマイクロアレイ解析から IMP3 とエピジェネティックなヒストン修飾との関連に着目し、予後との相関を解析した。さらにエピジェネティクス関連薬剤として DNMT1 阻害剤 (5AzaD) および HDAC 阻害剤 (TSA, VPA, SAHA) を投与したマウス骨肉腫モデルにおける IMP3 発現について RT-PCR で確認した。【成績】癌肉腫症例においては全生存期間に関して IMP3 発現は有意な予後不良因子であった ($p < 0.05$)。また、癌腫成分における IMP3 発現が予後と相関し、とくに病理組織型が漿液性成分である事が IMP3 発現と相関していた。一方で肉腫症例において IMP3 発現は認められなかった。癌肉腫症例においてヒストン修飾関連蛋白と IMP3 の発現に同様の相関関係を認め、予後不良因子として抽出された。さらにマウス骨肉腫モデルにおいては、HDAC 阻害剤である TSA を添加投与された細胞における IMP3 の発現が有意に上昇した。【結論】子宮癌肉腫において IMP3 発現が新たな予後予測因子である事が示唆された。さらに、IMP3 がエピジェネティックな制御を受けている可能性があり、癌肉腫に対する今後の新規治療標的候補としても期待される。

MW-17-4 ATP7B は子宮平滑筋肉腫の治療標的である

大阪大
角田 守, 松崎慎哉, 森本晶子, 高田友美, 小林栄仁, 上田 豊, 吉野 潔, 木村 正

【目的】子宮平滑筋肉腫 (LMS) は難治性疾患であり、有効な化学療法が存在せず、新規治療の開発が望まれる。今回、我々は子宮平滑筋肉腫におけるプラチナトランスポーターが、治療標的となりうるかを検討した。【方法】子宮平滑筋肉腫細胞株 (SK-LMS, SKN, SK-UT1) における、プラチナ抵抗性に関わる代表的なトランスポーター (MDR1, MRP2, ATP7A, ATP7B) の発現を RT-PCR 法および Western Blotting (WB) 法で解析した。臨床検体における発現を免疫組織学染色にて検証した。SK-LMS を用いて、RNAi にて ATP7B をノックダウンし、シスプラチンの IC50 (50% 阻害濃度) を測定した。また、ATP7B shRNA の遺伝子導入により、ATP7B の発現が低下した SK-LMS-7B 株を樹立した。【成績】RT-PCR 法により LMS 細胞株に高発現するトランスポーターとして、ATP7B が同定された。WB による検討では ATP7B は SK-LMS 細胞株において強発現を認め、LMS 臨床検体 20 症例中 14 症例 (70%) で発現を認めた。ATP7B のノックダウンにより、シスプラチンの IC50 が 20.7 μM から 7.4 μM へと有意に低下した。シスプラチン暴露後の細胞内プラチナ濃度はコントロール株では 0.19 pg/cell に対し、SK-LMS-7B 株では 0.61 pg/cell へ増加し、ATP7B の発現低下によりプラチナ排出が低下しプラチナ耐性が改善したと考えられた。【結論】ATP7B がシスプラチン抵抗性と関連し、子宮平滑筋肉腫の治療標的となる可能性がある。