

30-III-05

各種エストロゲン様活性物質による精巣細胞死への
Bcl-2/Bax系およびFas/FasL系の関与の相違

和泉 伸一¹⁾、菱川 善隆²⁾、進 正志³⁾、
江島 邦彰²⁾、安 樹才²⁾、田丸 直江²⁾、
宿輪 恵子²⁾、高野 邦雄¹⁾、小路 武彦²⁾
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 顎口腔細胞生
物学分野¹⁾
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 動的形態分子
解析学分野²⁾
崇城大学 工学部 応用生命科学科³⁾

【目的】エストロゲン様活性を有する内分泌攪乱物質は精子数を減少させる。この現象は精子形成細胞のアポトーシスに起因するが、アポトーシスを調節する分子群であるBcl-2/Bax系およびFas/Fasリガンド(L)系とエストロゲン様活性物質の種類によるアポトーシスの頻度との関係は未だ明白でない。本研究では、Bcl-2/Bax系およびFas/FasL系が、エストロゲン様活性物質の種類や濃度による精子形成細胞のアポトーシスの動態に関与するか検討した。【材料と方法】成熟ICRマウスおよびエストロゲン受容体alphaノックアウト(ERKO)マウスにethynylestradiol(EE)、estradiol-3-benzoate(EB)、diethylstilbestrol(DES)、bisphenol A(BPA)を種々の濃度で皮下投与し、精巣の組織切片を用いた。アポトーシスの検出にはTUNEL法を用いた。Bcl-2、Bax、Fas、FasLは酵素抗体法で検出した。【結果】精細管におけるTUNEL陽性細胞の数は、EEでは投与量による変化はなく、EBでは濃度依存的に増加し、DESではkg体重あたり100ng投与量と20mgに2つのピークで増加し、BPAでは4ugと40ugで減少したが40mgで増加した。Bcl-2は精子形成細胞の細胞質に陽性で、ICRマウスのBPA群でTUNEL陽性細胞が減少する濃度では精母細胞と精子細胞に強陽性となったが、それ以外の群では変化は無かった。Baxは精子形成細胞の細胞質に局限したが、細胞全体に分布するBax陽性細胞はICRおよびERKOマウスいずれもTUNEL陽性細胞とほとんど一致していた。対照群ではFasはLeydig細胞に、またFasLはSertoli細胞に局在し、低濃度投与群では変化は無かった。しかし、高濃度およびERKOマウスのDES投与群ではFasは精母細胞と精子細胞にも、またFasLはSertoli細胞に強陽性となった。【結語】エストロゲン様活性物質による精子形成細胞のアポトーシスは、物質の種類および濃度により多様に影響され、その多様性にICRおよびERKOマウスいずれにもBcl-2/Bax系およびFas/FasL系が関与することが示唆された。

30-III-06

ヒト乳癌細胞の動態制御へのkeratinocyte growth factor(KGF)及びその受容体(KGFR)の関与

田丸 直江¹⁾、菱川 善隆¹⁾、林 徳真吉²⁾、
小路 武彦¹⁾
長崎大学 医学部 解剖学第三講座¹⁾
長崎大学 医学部 附属病院病理部²⁾

【背景と目的】乳癌の増殖や分化はestrogenの影響を受けるが、詳細な分子機構は不明な点が多い。近年、ステロイドホルモンの上皮細胞への作用を調節する間質細胞由来の増殖因子KGFが注目され、乳癌の発生や増殖に関与する可能性が示唆されている。本研究では乳癌におけるKGF及びKGFRの発現と、estrogen受容体(ER α 及び β)の発現や細胞増殖及びアポトーシスとの関連について検討した。【材料と方法】正常乳腺8例および乳癌48例の4%パラホルムアルデヒド固定パラフィン包埋切片を用いた。KGF、KGFRのタンパク及びmRNAの検出は、それぞれ免疫組織化学および非放射性in situ hybridizationにより行った。ER α 、 β および細胞増殖活性の指標としてのKi-67は免疫染色により検討した。アポトーシス細胞の検出にはTUNEL法を用いた。【結果】1) 正常乳腺ではKGFおよびKGFRタンパクは陰性であった。乳癌組織において、KGFタンパクは40%の例で癌細胞および間質の細胞に陽性であった。一方、KGFRタンパクは52%で癌細胞に陽性であった。21%の症例にKGFとKGFRの共発現がみられた。また、KGF及びKGFRのタンパクと同様にKGFmRNA及びKGFRmRNAが検出された。2) Ki-67陽性率はKGF及びKGFR共発現群では $8.8 \pm 6.6\%$ 、それ以外の症例群では $14.6 \pm 8.0\%$ であった($p < 0.05$)。3) TUNEL陽性細胞の比率はKGF及びKGFR共発現群では $1.6 \pm 2.3\%$ 、それ以外の症例群では $3.2 \pm 2.3\%$ であった($p < 0.05$)。4) 癌細胞でのKGFの発現はERの発現と正の相関がみられ、KGF陽性例中93%がER α 陽性、また全例でER β 発現が認められた($p < 0.05$)。一方、KGFR発現とER発現の間に相関はみられなかった。【結語】乳癌細胞でのKGFの発現はERの発現と相関し、estrogen依存性にKGFが発現する可能性が示唆された。一方、KGF及びKGFR発現がautocrine/paracrine機構により、細胞増殖やアポトーシスの制御に関与する可能性が示唆された。