

S1-5

MUC2 ムチン発現と DNA プロモーター領域のメチル化との関連性

浜田 倫史^{1,2)}、後藤 正道¹⁾、山田 宗茂¹⁾、堤田 英明¹⁾、野元 三治¹⁾、東 美智代¹⁾、米澤 傑¹⁾

鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科¹腫瘍学講座
人体がん病理学、²顎顔面機能再建学講座 顎顔面疾患制御学

【目的】様々なヒト腺癌において、分泌型ムチンである MUC2 は予後良好因子であることが見い出され、腫瘍の生物学的悪性度とムチン抗原の発現との関連性が注目されている。本研究は、MUC2 ムチン発現への DNA メチル化の関与を検討することにより、ムチン遺伝子の発現機構の解明に迫ることを目的とした。【方法】膵癌細胞株 PANC-1(MUC2 発現陰性)、BxPC-3(MUC2 発現陽性)およびヒト大腸腺窩(MUC2 発現陽性)から抽出した DNA について、MUC2 プロモーター領域の転写開始位置より 2000bp 上流までに 59 個存在する CpG 部位のメチル化の状態を Bisulfite Genomic Sequencing 法を用いて検索し、比較検討を行った。また、5-aza-2'-deoxycytidine(5azaC)により細胞株のメチル化を阻害し、それによる MUC2 mRNA の発現の変化を real time RT-PCR で定量した。さらに、両細胞株間で明らかなメチル化レベルの違いを示し、かつ転写活性因子の結合部位を含む CpG 部位に対し特異的な Methylation specific PCR (MSP)用のプライマーを作成し、これを用いて他の培養細胞における MUC2 プロモーター領域のメチル化を検索し、western blotting 法により得られた蛋白発現との関連性を検討した。また臨床材料においては、外科切除標本からマイクロディセクションによって取り出された組織を用いて MSP でメチル化の状態を検討した。【結果】PANC1 のプロモーター領域では 全般に高度のメチル化が認められ(平均 87%)、完全にメチル化された CpG 部位は 59 か所中 28 か所であった。BxPC-3 は平均 43%で、完全なメチル化を認めた CpG 部位は 2/59 であった。ヒト正常大腸腺窩では平均 33%で、完全にメチル化された CpG 部位は存在しなかった($p<0.0001$)。PANC1 に対する 5azaC 処理はメチル化レベルを 36%に減少させ、同時に MUC2 mRNA の発現を増加させた。MSP では、各種の細胞株やヒト腫瘍組織において、MUC2 の発現と相関する脱メチル化を認めた。【考察】各種細胞株およびヒト組織における MSP では、MUC2 蛋白の発現に強く相関するプロモーター領域の脱メチル化を認め、特異的な CpG 部位のメチル化が MUC2 の発現に際し重要な役割を担っている可能性が示唆された。

シンポジウム 2

S2-1

細胞増殖とアポトーシス

堤 寛

藤田保健衛生大学 医学部 第 1 病理学

細胞増殖の観点から、生体細胞は 3 種に大別される。第 1 は、生後分裂増殖・再生することなく、一生機能し続ける。第 2 は、再生能を有しているが、組織を構成すると分裂増殖することなく安定した形態を保つ。第 3 は、絶えず分裂増殖し、細胞交替によって置き換わる。これら細胞はそれぞれ、stable cell、stabilized cell、renewing cell とよばれる。

細胞には細胞増殖能に対応したアポトーシス活性が観察される。stable cell ではアポトーシスは著しく抑制されている。増殖しない stable cell が徐々にアポトーシスに陥ることは「老化現象」である。Stabilized cell では、何らかの誘因による増殖能の亢進に応じて、アポトーシスが誘導される。一方、renewing cell では、細胞増殖とともにアポトーシスもまた恒常的に生じ、ホメオスタシスが保たれる。Renewing cell の代表であるがん細胞でも、アポトーシスのめだつ場合はほぼ例外なく増殖能が高く、悪性度が高い。

アポトーシスの機構・制御を論じるとき、こうした細胞動態や動的細胞分化の視座が重要である。神経細胞で論じられたアポトーシス（禁断のアポトーシス）の機序とリンパ球のそれ（必要不可欠なアポトーシス）とは必ずしも同一ではないか、同一機序では論じられない可能性を考慮すべきである。

細胞の増殖と分化の関係は renewing cell でとくに問題となる。Renewing cell におけるアポトーシスでは、増殖細胞そのものが細胞死するリンパ球（胸腺皮質細胞や胚中心細胞）やがん細胞と、増殖細胞とアポトーシスに陥る分化型細胞が分離している場合（造血幹細胞、表皮、消化管粘膜、精母細胞）の 2 つに分けて論じるべきである。後者で増殖性細胞がアポトーシスに陥れば、それは病的状態とみなされる。このように、細胞増殖や細胞死の解析の際には、両者のバランスの視点を忘れてはならない。