

PD6-01 大腸癌における癌関連遺伝子プロモータ領域の hypermethylation の解析

前田一也, 川上和之, 平沼知加志, 尾山佳永子, 金平永二, 大村健二, 渡邊 剛
(金沢大学心肺・総合外科)

【目的】癌関連遺伝子プロモータ領域の hypermethylation が, epigenetic な変化として癌化に関わっていることが明らかとなってきた。現在までの大腸癌を中心とした解析から p16, hMLH1, APC 遺伝子などが共通して hypermethylation を受けている癌の subtype すなわち methylator phenotype の概念が提唱されつつある。今回我々は進行大腸癌において 15 遺伝子のプロモータ領域の hypermethylation を解析し, hypermethylation の有無と臨床病理学的特徴の関連を検討した。【方法】大腸癌症例を対象とし, p16, hMLH1, APC, ESRI, ARF, CALCA, CDH, DAPK, GSTP1, HIC1, MGMT, MYOD1, p15, THBS, TIMP3 のプロモータ領域の hypermethylation を解析した。hypermethylation の解析は methylation specific real time PCR 法により行った。【成績】15 遺伝子の内で, 癌に特異的に hypermethylation を認めたのは, p16(13%), hMLH1(11.6%), APC(22.8%), ARF(6.2%), GSTP1(3.1%), THBS(3.1%), TIMP3(20.8%) の 7 遺伝子であった。各種臨床病理学的因子と hypermethylation の有無との関係を検討すると, p16 に hypermethylation を認めた症例では組織型, ly, 病期, 病変部位, 予後との有意な相関を認めた。APC に hypermethylation を認めた症例では組織型, ly, 病期, 性別, 予後との有意な相関を認めた。ARF は組織型と, hMLH1 は組織型, 病変部位と, THBS は組織型, ly と, TIMP3 は組織型, H と, GSTP1 は病変部位と有意な相関を認めた。7 遺伝子の内の 3 つ以上に hypermethylation を認めた症例は 9.2% で, 病変部位との相関を認めた。【結論】大腸癌において癌関連遺伝子の hypermethylation profile は予後を含めた癌の特性を反映している可能性が示唆された。今後さらに詳細な methylator phenotype の判定などによる癌の個性診断に臨床応用が可能であると考えられた。

PD6-02 自己分泌型運動因子受容体 (AMFR) 過剰発現の悪性形質転換と細胞運動におよぼす影響

大西康晴^{1,2)}, Raz Avraham²⁾, 土屋康紀¹⁾, 澤田成朗¹⁾, 塚田一博¹⁾
(富山医科薬科大学医学部第2外科¹⁾, カルマノス癌研究所²⁾)

【目的】今日の固形癌に対する外科的治療の著しい進歩にもかかわらず, 依然として術後の遠隔臓器への転移, 再発がみられることも少なくなく, その機序の解明と制御は重要な課題の一つである。癌細胞の転移は複雑な過程から成り立っているが, その転移カスケードにおいて, 細胞の運動性は, 癌細胞の細胞外基質成分への接着あるいはその酵素的破壊とともに, 悪性腫瘍の転移・浸潤に重要な役割を果たしている。近年, 運動能を刺激するサイトカインである自己分泌型運動因子 (AMF) の受容体 (AMFR) の発現が食道癌, 胃癌, 大腸癌, 肺癌, 悪性黒色腫の転移に関与することが報告されているが, その詳細な機序については未だ不明な点が多い。今回, AMFR cDNA 遺伝子導入により樹立した AMFR 過剰発現細胞を用いて, 細胞運動能およびその他の細胞特性におよぼす影響について検討した。【方法と結果】マウス線維芽細胞 NIH3T3 に AMFR のセンス遺伝子発現ベクターあるいはネオマイシン耐性遺伝子のみを発現ベクターをリポフェクション法により導入し, 各導入株から AMFR 過剰発現株を選別した。in vitro における形態変化を観察した結果, 対照細胞株では比較的規則的な細胞配列を示したが, AMFR 遺伝子導入細胞では接触阻止現象の喪失がみられ不規則な配列を示した。次に, 軟寒天内コロニー形成法を用いて, 足場非依存性の増殖能を検討した。その結果, 対照群ではコロニーがみられなかったが, AMFR 過剰発現株において足場非依存性の増殖能が獲得された。また, 低濃度 (0.5%) 血清における培養条件で, AMFR 過剰発現細胞の増殖促進がみられたが, 対照群では認められなかった。さらに, 金コロイド法を用いて細胞運動能を測定した結果, AMFR 過剰発現株の運動能は対照細胞に比べて有意に亢進していた。【結語】以上の結果から, マウス線維芽細胞に AMFR cDNA を遺伝子導入することで得られた AMFR 過剰発現細胞は, 悪性形質転換能を獲得することが明らかとなった。形質転換した細胞の運動能は亢進しており, AMFR が細胞浸潤に重要な役割を果たしていることが示唆された。今後, 消化器外科手術の補助療法として, 転移関連分子である AMF および AMFR を標的とした抗運動療法の開発が期待される。