慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	ヒトNotch 4およびヒトNotch 1遺伝子の子宮内膜癌における発現異常
Sub Title	
Author	鈴木, 貴士
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.1 (2004. 3) ,p.25-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040302-0025

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

ヒト *Notch 4* およびヒト *Notch 1* 遺伝子の子宮内膜癌における発現異常

鈴木　貴士

内容の要旨

【目的】ショウジョウバエの*Notch*遺伝子は、個体の発生過程において重要な役割を演じる遺伝子である。その相同遺伝子は様々な動物種から複数単離されており、*Notch*の突然変異は発生異常を示す。今回検討対象としたヒト*Notch4*および*TAN-1*はショウジョウバエ*Notch*の相同遺伝子としてクローニングされた。両者は発生過程だけでなく*TAN-1*の発現異常による白血病に代表されるように、発癌にも関与することが報告されているが、その発現パターンや機能については不明な点が多い。そこで本研究では、正常子宮内膜および子宮内膜癌におけるヒト*Notch4*および*TAN-1*遺伝子の時間的空間的発現を明らかにし、ヒト*Notch4*および*TAN-1*遺伝子の正常子宮内膜および子宮内膜癌における機能を推察した。

【方法】患者の同意を得た上で、婦人科良性疾患や子宮頸癌で摘出された子宮より各月経周期の正常子宮内膜サンプルを採取した。また子宮内膜癌サンプルは手術時に採取した。これらのサンプルより全RNAを抽出し、ヒト*Notch4*と*TAN-1*の特異的プローブを用いてノーザンブロット（NB）を行った。さらに、ポリ-(A)+RNAを抽出しRT-PCRにて各々の遺伝子を増幅した後、それぞれの特異的プローブを用いてドットブロット（DB）を行った。また４％ーパラホルムアルデヒドにて固定したサンプルを使って*in situ* hybridization（ISH）を行った。

【結果】NBの結果、正常子宮内膜および子宮内膜癌においてヒト*Notch4*と*TAN-1*の明らかなシグナルを検出できなかったが、DBによりその発現が確認された。ドットのシグナル強度を統計学的に検討した結果、ヒト*Notch4*の発現量は増殖期から分泌期になると有意に減少したが、*TAN-1*では同様の傾向を認めるものの有意な差を認めなかった。子宮内膜癌では、ヒト*Notch4*は正常子宮内膜より発現量が有意に減少していたが、*TAN-1*では有意に増加していた。ISHの結果、正常子宮内膜ではヒト*Notch4*および*TAN-1*遺伝子は主に腺細胞に、子宮内膜癌では癌細胞と間質細胞に同等のレベルで発現していることが確認された。

【結論】月経周期によってヒト*Notch4*と*TAN-1*の発現量がほぼ同様に変化することから、両者は正常子宮内膜の増殖期から分泌期への変化に関与していることが示唆された。その局在は正常子宮内膜では主に内膜腺細胞に、子宮内膜癌では癌細胞とその間質細胞に発現していた。さらに子宮内膜癌におけるヒト*Notch4*の発現量は正常子宮内膜と比較して減少したのに対して、*TAN-1*では増加しており、両者の発現量比の変化が正常な細胞の運命決定や細胞増殖の破綻を通して子宮内膜癌の発生に関与していることが示唆された。

論文審査の要旨

ショウジョウバエ*Notch*とその相同遺伝子は個体発生に関与するだけではなく、癌化にも関与する。一方、正常子宮内膜は月経周期により増殖期から分泌期へと変化すると同時に、子宮内膜癌の母組織となる。本研究では、ショウジョウバエ*Notch*の相同遺伝子であるヒト*Notch4*（N4）とヒト*Notch1*（N1）の、正常子宮内膜の増殖期から分泌期への変化および子宮内膜癌の発生への関与の可能性を検討した。正常子宮内膜および子宮内膜癌サンプルを用い、ノーザンブロット（NB）、ドットブロット（DB）、*in situ*ハイブリダイゼーション（ISH）を行った。その結果、月経周期の増殖期から分泌期への変化にあわせてN4の発現量が有意に減少し、N1の発現量も減少する傾向を認めた。さらに、正常子宮内膜と子宮内膜癌におけるN4とN1発現量を比較したところ、子宮内膜癌においてN4の発現量が有意に減少したが、N1では有意に増加したことを明らかにした。またISHにより、N4とN1はともに正常子宮内膜の腺細胞に、子宮内膜癌の癌細胞と間質細胞にそれぞれが発現していることを明らかにした。これらのことから、N4とN1は正常子宮内膜の増殖期から分泌期への組織学的な変化に協調的に関与している可能性や、N4とN1の発現量比の変化が子宮内膜の癌化に関与している可能性を示唆した。

審査ではまず、DBよりはreal time PCRやPCR-サザンブロット、抗体を用いた免疫染色を行うべきであること、ISHにおいて他の分子でのコントロールを加えることや、他の相同遺伝子やリガンドの検討など、方法論について指摘されたが、サンプル量の問題、抗体の入手やプローブの作成が困難であるため検討が不可能であったと回答された。DBによる発現量の比較は、正常子宮内膜全体よりも増殖期内膜と子宮内膜癌で行うべきと助言された。DBでは子宮内膜癌でN4の発現量が減少するが、ISHでは癌細胞と間質細胞に発現しているので、むしろ発現量が増加していると解釈するべきとの質問に、ISHではシグナル検出のために発色時間を長くしたことや、N1よりはN4の方がシグナル検出により多くの時間を要したため定量性が低い、と回答された。子宮内膜癌で発現量が減少するので、N4は腫瘍抑制遺伝子と考えられるかとの質問に対し、可能性はあるが、その証明には検討を要すると回答された。子宮内膜癌の組織型や分化度、子宮内膜増殖症での発現量の差について、N1・N4とエストロゲンの関係の有無について質問されたが、本研究での例数が少ないことや、今までにも報告されていないことから今後の検討を要すると回答された。

以上のように本研究はさらに検討されるべき課題を残しているものの、N4とN1が月経周期や子宮内膜癌で発現量が変化している点を明らかにした点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者　主査　産婦人科学　野澤　志朗
　　産婦人科学　吉村　泰典　　病理学　坂元　亨宇
　　先端医科学　河上　　裕
学力確認担当者：北島　政樹、吉村　泰典
　　審査委員長：吉村　泰典

試問日：平成15年12月13日