

論文内容要旨

論文題目

Raloxifene Inhibits Estrogen-induced Up-regulation of
Telomerase Activity in a Human Breast Cancer Cell Line

(ラロキシフェンはヒト乳癌細胞においてエストロゲンが誘導する
テロメラーゼの活性化を抑制する)

責任講座： 発達生体防御学 講座
(女性医学分野)

氏 名： 川越 淳

【内容要旨】

【目的】ホルモン補充療法(HRT)では乳癌の増加が重要な問題である。乳癌の増加抑制という観点から、HRTの新しい薬剤として選択的エストロゲン受容体調節薬が注目され、その一つであるラロキシフェンは乳癌の発生を抑制すると報告されている。エストラジオール(E₂)は乳癌の増殖機構の一つとして重要な telomerase を活性化すると報告されているが、ラロキシフェンの作用は明らかではない。そこで、本研究では、乳癌細胞における E₂ およびラロキシフェンの telomerase に対する効果と、その作用機序について検討した。

【方法】乳癌細胞である MCF-7 を用いて、E₂ (10⁻⁸ M) およびラロキシフェン(10⁻⁸ M) 投与下で以下の検討を行った。1) 細胞増殖を、trypan blue exclusion test で細胞数を測定して検討した。2) telomerase 活性への効果を stretch PCR により測定した。3) telomerase 活性の律速段階である human telomerase reverse transcriptase (hTERT) の mRNA の発現を RT-PCR にて測定した。4) hTERT mRNA の発現制御機序を検討するため、hTERT promoter-luciferase 遺伝子とその mutant を細胞に導入し promoter 活性を測定した。5) hTERT の promoter 活性化に関与が示唆されている Akt および inhibitor of NFκB (IκB) のリン酸化を western blotting にて検討した。6) hTERT は Akt によりリン酸化され、nuclear factor kappa B p65 (NFκB p65) と結合して核内へ局在を変えて telomerase を活性化すると報告されている。この Akt による hTERT のリン酸化と NFκB p65 との結合を免疫沈降法で、hTERT の細胞内での局在を共焦点顕微鏡で観察した。

【結果】1-3) ラロキシフェンは、E₂ による乳癌細胞増殖、telomerase 活性化、hTERT mRNA 発現促進作用を抑制した。4) E₂ による hTERT promoter 活性化機序には estrogen response element (ERE) を介する経路と介さない経路があり、ラロキシフェンはどちらも抑制した。5) ERE を介さない hTERT promoter 活性化経路には NFκB が関与し、E₂ は PI3K/Akt/IκB 経路を介して NFκB を活性化し、promoter 活性を上昇させるが、ラロキシフェンはこの経路を抑制することによって E₂ の作用を抑制した。6) E₂ により hTERT は Akt を介してリン酸化され、NFκB p65 と結合し核内へとその局在を変えるが、ラロキシフェンはこの作用も抑制した。

【結論】E₂ による乳癌細胞増殖作用には、transcriptional および post-translational な経路による telomerase 活性化機序の関与が示唆され、ラロキシフェンは両者の経路も抑制することにより、E₂ の作用を抑制した。このラロキシフェンの作用が、乳癌細胞増殖抑制に関与していることが示唆された。


平成 17 年 1 月 31 日


山形大学大学院医学系研究科長 殿


学位論文審査結果報告書

申請者氏名: 川越 淳

論文題目: Raloxifene Inhibits Estrogen-induced Up-regulation of Telomerase Activity in a Human Breast Cancer Cell Line
(ラロキシフェンはヒト乳癌細胞においてエストロゲン誘導するテロメラーゼ活性化を抑制する)

審査委員: 主審査委員 木村 理 

副審査委員 荻野 幸彦 

副審査委員 山川 光徳 

審査終了日: 平成 17 年 1 月 17 日

【 論文審査結果要旨 】

ホルモン補充療法(HRT)では乳癌の増加が重要な問題である。乳癌の増加抑制という観点から、HRTの新しい薬剤として選択的エストロゲン受容体調節薬が注目され、その一つであるラロキシフェンは乳癌の発生を抑制すると報告されている。エストジオール(E₂)は乳癌の増殖機構の一つとして重要な telomerase を活性化すると報告されているが、ラロキシフェンの作用は明らかではない。そこで、本研究では、乳癌細胞における E₂ およびラロキシフェンの telomerase に対する効果と、その作用機序について検討した。

その結果 1-3)ラロキシフェンは、E₂ による乳癌細胞増殖、telomerase 活性化、hTERT mRNA 発現促進作用を抑制した。4) E₂ による hTERT promoter 活性化機序には estrogen response element (ERE)を介する経路と介さない経路があり、ラロキシフェンはどちらも抑制した。5) ERE を介さない hTERT promoter 活性化経路には NFκB が関与し、E₂ は PI3K/Akt/IκB 経路を介して NFκB を活性化し、promoter 活性を上昇させるが、ラロキシフェンはこの経路を抑制することによって E₂ の作用を抑制した。6) E₂ により hTERT は Akt を介してリン酸化され、NFκB p65 と結合し核内へとその局在を変えるが、ラロキシフェンはこの作用も抑制した。

川越氏の研究は、E₂ による乳癌細胞増殖作用には、transcriptional および post-translational な経路による telomerase 活性化機序の関与が示唆され、ラロキシフェンはどちらの経路も抑制することにより、E₂ の作用を抑制して、乳癌細胞増殖抑制に関与していると結論づけた貴重な研究である。審査委員会は全員が一致して川越氏が博士(医学)の称号を受けるのに相応しとの結論に達した。