ヒト子宮内膜癌における PGRMC₁ の機能解析**

金 田 容 秀*
HIROSHI KANEDA

PGRMC₁ (progesterone receptor membrane component 1) は1996年にブタの肝細胞膜から発見されたプロゲステロンレセプターの一つであり、ヒトの腎臓や肝臓、子宮内膜、卵巣に比較的発現が強くみられ、ホルモンや電解質などの代謝作用や、アポトーシスを抑制することなどが様々な細胞で解明された。癌細胞では乳癌や甲状腺癌、大腸癌、肺癌、卵巣癌などにも発現を認め、特に乳癌では予後因子との関連を示唆する報告があった。

ヒト子宮内膜癌細胞 Ishikawa cell においても PGRMC₁ は発現を強く認め、PGRMC₁ をノックダウンすると PI3K/AKT 経路においてリン酸化 AKT と PDK1 の発現低下を認めたが、MAPK 経路には影響を及ぼさなかった。

また PGRMC₁ をノックダウンした Ishikawa cell ではアポトーシスが誘導され、低酸素ストレス下では細胞活性が抑制され抗腫瘍効果を示した。

子宮内膜癌細胞株 Ishikawa cell において PGRMC₁ はその細胞維持に PI3K/AKT 経路の PDK1-AKT 間でクロストークしており、PGRMC₁ を抑制することで Ishikawa cell を制御できることが解明され、PGRMC₁ は子宮内膜癌の治療において一つの分子標的となり得ることが示唆された。

キーワード: PGRMC₁, 子宮内膜癌, プロゲステロンレセプター, PI3K/AKT 経路, リン酸化 AKT

はじめに

私はこの度、平成19年度海外留学時助成金を頂戴し、2008年6月から2010年8月までイギリスのロンドンにある Imperial College London へリサーチフェローとして留学させていただいた。研究施設である IRDB (Institute of Reproductive and Developmental Biology) は Hammersmith Campus にあり、Uterine Biology グループの Jan Brosens 教授の下でヒト子宮内膜癌における PGRMC₁ の機能解析について研究する機会を得ることができ、以下にその研究結果を報告させていただく。

研究背景

ステロイドホルモンレセプターの細胞内における機能解析は飛躍的に研究が行われ、その一つであるプ

ロゲステロンレセプターは直接核内の染色体へ働きかける classical type と細胞膜などにあるレセプターへ働きかける non-classical type に分類される^{1)~7)}。

non-classical type のプロゲステロンレセプターなどステロイドホルモンが担う主な細胞生存シグナルの一つに RTK/Ras シグナル伝達経路があり、その下流には PI3K/AKT 経路や MAPK 経路などがある。プロゲステロンレセプターはこれらの経路を通じて、細胞周期の促進、DNA 修復、細胞増殖など、主に細胞を生存維持へとシグナルを伝えていく^{1)~7)}。

癌細胞ではこれらのシグナル経路に異常が起こり RTK の遺伝子増幅や活性化型変異などを背景に、細胞の無尽蔵な異常増殖がプログラミングされている。癌に対する臨床的な治療戦略は従来の手術や抗癌剤、放射線療法に加え、近年ではこれらの細胞シグナルを阻害することを主体とした分子学的な治療や免疫療法なども臨床の現場で注目されはじめてきた。分子標的治療とは、正常細胞に比べて癌細胞の分子シグナル内で特有の質・量的な変化を現す分子を標的とし、それらを阻害することで抗腫瘍効果を現すことである。

プロゲステロンレセプター non-classical type の一つである PGRMC₁ は正常細胞において、細胞生存維

* 順天堂大学医学部産婦人科学講座

* Department of Obstetrics and Gynaecology, Juntendo University Faculty of Medicine, Tokyo, Japan

** 第325回順天堂医学会学術集会〔May 21, 2011 開催〕
〔July 11, 2011 原稿受領〕

図-1 子宮内膜増殖期・分泌期におけるPGRMC₁の発現

A: PTQ-PCRによるmRNAレベル

B: 免疫組織化学

細胞質内のPGRMC1は分泌期よりも増殖期に強い発現を認める。

持へとシグナルを伝えていく役割をもっていることが数多く報告された^{1)~7)}。癌細胞においてもPGRMC₁の発現が確認されその機能についての報告がされ始めたが^{8)~16)}、癌細胞においてPGRMC₁の機能や位置づけについては未知な部分が多い。

本稿ではPGRMC₁のヒト子宮内膜癌での機能解析を行い、分子生物学的な臨床的役割を示唆した。

PGRMC₁について

PGRMC₁ (progesterone receptor membrane component 1) は1996年にブタの肝細胞膜から発見されたプロゲステロンレセプターの一つであり¹⁷⁾、ヒトの脳¹⁸⁾、腎臓¹⁹⁾、肝臓^{19) 20)}、子宮内膜²¹⁾、卵巣²²⁾に比較的发現が強くみられる。PGRMC₁は血球結合能をもち合わせ^{23) 24)}チトクロームb5²⁵⁾やチトクロームP450^{26)~28)}と結合してホルモンや電解質などの代謝作用を現し^{29) 30)}、またPAIRBP1 (plasminogen activator inhibitor RNA binding protein 1) と結合することで³¹⁾アポトーシスを抑制することが解明された^{32) 33)}。癌細胞においては乳癌細胞での発現が報告され^{8)~11)}、ほかにも甲状腺癌^{11) 12)}や大腸癌¹²⁾、肺癌¹³⁾、卵巣癌^{14) 15)}などにも発現を認めた報告や、癌治療に関する報告¹⁶⁾が続き、特に乳癌では予後因子との関連を示唆する報告があった^{9) 10)}。

PGRMC₁はシグナル異常を起こしている癌細胞において機能的な役割をしていることが考えられた。

結 果

1. 免疫組織化学

ヒト正常子宮内膜細胞においてPGRMC₁は免疫組織

化学的やmRNAレベルにおいても分泌期に比べて増殖期に強い発現を認めた(図-1)。また免疫染色スコアでは正常細胞よりは低いものの子宮内膜癌細胞でもPGRMC₁の発現は認められ(図-2A)、分化度の高い腫瘍ほど免疫組織化学的に強い染色発現を認めた(図-2B)。

2. PI3K/AKT経路とMAPK経路

高分化型子宮内膜癌細胞株であるIshikawa cellとHEC-1Bを用いてPGRMC₁のタンパク発現量をウェスタンブロットで解析し、Ishikawa cellでは強発現を認め、同株のHEC-1Bでは比較的弱い発現を認めた。PI3K/AKT経路とMAPK経路の下流に位置するタンパク分子AKTとERKは両細胞株で強発現を認めた(図-3)。

3. PGRMC₁ノックダウン/オーバーエクスプレッション

small interfering RNA (siRNA) 用試薬を用いLipofectamine法(Lipofectamine2000; Invitrogen)でIshikawa cellにトランスフェクションしてPGRMC₁をノックダウンし、PGRMC₁-pcDNAを用いてLipofectamine法でHEC-1BにトランスフェクションしてPGRMC₁をオーバーエクスプレッションしたモデルを作製した。PGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellではPI3K/AKT経路においてリン酸化AKTのdown regulationを認めたがMAPK経路には影響せず(図-4A)、PGRMC₁をオーバーエクスプレッションしたHEC-1Bではどちらの経路にも変化を認めなかった(図-4B)。

図-2A 免疫染色スコア
正常ヒト子宮内膜, 子宮内膜増殖症, 子宮内膜癌の順にPGRMC₁の発現量を認める。

図-2B 免疫組織化学
a=複雑型子宮内膜異型増殖症
b=高分化型子宮内膜癌
c=中分化型子宮内膜癌
d=低分化型子宮内膜癌
complex atypical hyperplasia
well-differentiated carcinoma
moderately-differentiated carcinoma
poorly-differentiated carcinoma

図-2B 免疫組織化学
高分化型腫瘍であるほどPGRMC₁の染色は強く認められた。

図-3 ヒト子宮内膜癌細胞Ishikawa cellとHEC-1BにおけるPI3K/AKT経路とMAPK経路
PI3K/AKT経路とMAPK経路の下流タンパク分子であるAKTとERKはPGRMC₁とともに発現された。

4. PGRMC₁ノックダウンしたIshikawa cellにおけるPI3K/AKT経路 PGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellを用い

てPI3K/AKT経路の上流シグナル分子のタンパクレベルをウェスタンブロット法で解析し, Ras-PI3Kシグナルに続くPDK1はダウンレギュレーションされPTENでは変化が認められなかった(図-5A)。またELISA (PIP3 Mass Assays; echelon)で測定したPIP3レベルに差は認めなかった(図-5B)。RTQ-PCR法でPI3K/AKT経路のターゲット遺伝子のmRNAレベルを解析し, GADD45, SGK1, FOXO1はPGRMC₁をノックダウンさせることで発現の抑制を認めた(図-5C)。

5. 低酸素ストレス

通常20%酸素下で行う細胞培養のNormoxia群をコントロールとし, 8%酸素供給の低酸素インキュベータを用いたHypoxia群で, 低酸素ストレス下におけるPGRMC₁機能への影響を比較した。PGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellにおいて低酸素ストレス下に顕微鏡下でカウントした細胞数はNormoxia群とHypoxia群で差はなく(図-6A), MTS assay法を用いた細胞活性測定においても差は認められなかった(図-6B)。ウェスタンブロット法によるタンパクレベルやRTQ-PCR法によるタンパク量やmRNA解析で, 低酸素ストレスによりタンパク量とターゲット遺伝子mRNAはともに発現量の抑制が認められ, PGRMC₁をノックダウンすることでその抑制は両者ともさらに強く認められた(図-6C)。

図-4A PGRMC₁をノックダウンした Ishikawa cell
PI3K/AKT経路においてリン酸化 AKTのdown regulationを認めたがMAPK経路には影響しなかった。

図-4B PPGRMC₁をオーバーエクスプレッションしたHEC-1B
PI3K/AKT経路とMAPK経路どちらの経路にも影響を認められなかった。

6. アポトーシス

アポトーシスシグナルの一つであるcaspase活性経路の下流に位置しアポトーシスマーカーであるC-PARPのタンパクレベルをウェスタンブロット法で解

析し、PGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellにおいてC-PARPの発現増強を認めた(図-7)。

考 察

一般に細胞を生存維持へと導く細胞増殖や分化の分子学的なシグナル経路としてMAPK経路、PI3K/AKT経路、JNK経路などがあり、特に多くの腫瘍細胞ではMAPK経路やPI3K/AKT経路の異常亢進が背景にある。

これらのシグナル経路上でPGRMC₁がどのように働き、機能的役割を担っているのか解析すべくヒト子宮内膜癌細胞株としてIshikawa cellとHEC-1Bを用いて研究を行った。

はじめに正常ヒト子宮内膜と筋層でPGRMC₁の免疫染色とmRNAレベルを調べてみると、子宮内膜において細胞増殖・分化が盛んな増殖期に高いPGRMC₁レベルを認め、PGRMC₁は細胞増殖に強くかかわることが考えられた。子宮筋層においても妊娠・分娩中ともにPGRMC₁の発現は安定して認められた(data not shown)。

続いて子宮内膜癌におけるPGRMC₁の発現を病理学的に分析してみると、正常細胞よりも発現量は少ないものの分化度の高い腫瘍細胞の細胞質にPGRMC₁の染色を認めた。

MAPK経路とPI3K/AKT経路上のタンパクキナーゼの発現をウェスタンブロット法を用いて解析してみると、各経路の下流に位置しターゲット遺伝子のすぐ上流にあるERKとAKTのタンパク量はIshikawa cellとHEC-1Bどちらの細胞にも強い発現を認めたが、PGRMC₁はHEC-1BよりもIshikawa cell優位に強い発現を認めた。

そこで、Ishikawa cellではsiRNA法でトランスフェクションしてPGRMC₁をノックダウンしたモデルを作り、HEC-1Bでは大腸菌から精製したPGRMC₁-pcDNAをトランスフェクションしてPGRMC₁をオーバーエクスプレッションしたモデルを作製した。どちらのモデルもトランスフェクション後2日目にタンパク発現量の差を認めた(data not shown)。

PGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellではリン酸化AKTのダウンレギュレーションが認められたが、MAPK経路では特に変化は認めなかった。PGRMC₁をオーバーエクスプレッションしたHEC-1BではMAPK経路・PI3K/AKT経路の両者において各キナーゼのタンパク発現量に影響は認めなかった。

ここでPGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellを用い、PI3K/AKT経路の上流シグナルに位置するタンパクキナーゼPDK1とPTENのタンパク量を

図-5A PI3K/AKT経路上のPDK1とPTEN
PGRMC₁をノックダウンしたIshikawa cellではPDK1のdown regulationが認められ、PTENには影響を及ぼさなかった。

図-5B PI3K/AKT経路上のPIP3
ELISAで測定されるPIP3の抽出量はPGRMC₁をノックダウンしても差は認められなかった。

図-5C PI3K/AKT経路のターゲット遺伝子
RTQ-PCR法でPI3K/AKT経路のターゲット遺伝子のmRNAレベルを見てみると、GADD45、SGK1はPGRMC₁をノックダウンさせることで発現抑制を認められた。

ウェスタンブロット法で解析してみると、PGRMC₁をノックダウンすることでPDK1はダウンレギュレーションされたがPTENには影響を及ぼさなかった。またPGRMC₁をノックダウンしたときのPIP3の抽出量をELISA法で解析したが、PGRMC₁をノックダウンしてもコントロール群との間に差は認めなかった。

さらにRTQ-PCR法でPI3K/AKT経路のターゲット遺伝子のmRNAレベルを解析してみたところ、GADD45、SGK1、FOXO1はPGRMC₁をノックダウンすることでその発現量が抑制されていることが確認できた。

これらの結果より、PGRMC₁はヒト子宮内膜癌細胞株であるIshikawa cellにおいて、MAPK経路とは関係なくPDK1-AKTレベルでPI3K/AKT経路にクロストークするということが確認された。

一般的に低酸素ストレスは血管新生を妨げ細胞へ大きなダメージを与えるとされているが³⁴⁾、腫瘍細胞においては抗腫瘍効果を現したり、腫瘍増殖作用を現したりするなど、双極的な意見が唱えられてきた^{35)~41)}。

そこでわれわれも低酸素下によって起こる分子細胞学変化を確認すべく、通常の20%酸素下で細胞培

養を行ったNormoxiaと8%酸素供給の低酸素インキュベータを用いたHypoxiaで72時間インキュベータし、低酸素ストレス下におけるPGRMC₁への影響を確認した。

Normoxia群とHypoxia群との間に顕微鏡下でカウントした細胞数に変化はなく細胞の活性にも大きな差はみられなかった。しかしながらウェスタンブロット法で確認したPGRMC₁のタンパクレベルやRTQ-PCR法で確認したターゲット遺伝子mRNAレベルなどは低酸素下で発現量が抑えられ、PGRMC₁をノックダウンしたモデルではその抑制が強く認められた。低酸素ストレスはIshikawa cellに対して抗腫瘍効果を現し、PGRMC₁をノックダウンすることによってさらなる抗腫瘍効果を認めた。

最後にアポトーシスについて触れてみた。アポトーシスが誘導される様々な経路の一つにcaspase活性経路がある⁴²⁾。このcaspase活性経路下流に位置しているアポトーシスマーカーC-PARPのタンパク発現量をウェスタンブロット法で解析したところ、PGRMC₁をノックダウンすることでC-PARPのタンパク量の強発現が認められ、PGRMC₁を制御することでアポ

図-6A 低酸素ストレスにおける細胞数の変化
低酸素ストレス下に顕微鏡下でカウントした細胞数においてPGRMC₁をノックダウンしても変化は認められなかった。

図-6B 低酸素ストレスにおける細胞活性の変化
MTS assay法を用いた細胞活性測定ではPGRMC₁をノックダウンしても変化は認められなかった。

図-6C 低酸素とPGRMC₁ノックダウンによる細胞ストレス
ウェスタンブロット法によるPGRMC₁のタンパク量とRTQ-PCRによるmRNA量は低酸素ストレスにより漸減して認められた。

図-6D 低酸素とPGRMC₁ノックダウンによるPI3K/AKT経路ターゲット遺伝子への影響
PGRMC₁ノックダウンによって制御されていたターゲット遺伝子量は低酸素ストレスによってさらに抑制された。

図-7 PGRMC₁ノックダウンによるアポトーシスへの影響
PGRMC₁をノックダウンするとcaspase活性経路下流にあるアポトーシスマーカーのC-PARPのタンパク量が強発現した。

トーシスが誘導されることが示唆された。

結 語

PGRMC₁は、tumorigenesisにシグナルが亢進しているPI3K/AKT経路のPDK1-AKT間でクロストークすることでヒト子宮内膜癌細胞株であるIshikawa cellを制御し、また低酸素ストレスに対して抵抗性を示すうえにアポトーシスを回避する機能がある可能性があることが本研究で確認された(図-8)。

図-8 癌分子細胞シグナルで PGRMC₁ は PI3K/AKT 経路と PDK1-AKT 間でクロストークし、細胞増殖などの細胞生存維持を制御している。

この研究の結論として、PGRMC₁ を制御することは子宮内膜癌において分子標的治療の一つとなり得る可能性があることが示唆された。

謝 辞

以上の研究留学の助成や機会を与えてくださった前同窓会長乾道夫先生、現同窓会長森近浩先生、前学術担当理事岡功先生、現学術担当理事落合匠先生、ならびに同窓生の諸先生方に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Bramley T : Non-genomic progesterone receptors in the mammalian ovary : some unresolved issues. *Reproduction*, 2003 ; **125** : 3~15.
- 2) Cahill MA : Progesterone receptor membrane component 1 : an integrative review. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2007 ; **105** : 16~36.
- 3) Rekawiecki R, Kowalik MK, Slonina D, *et al* : Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. *J Physiol Pharmacol*, 2008 ; **59** : S75~S89.
- 4) Gellersen B, Fernandes MS, Brosens JJ : Non-genomic progesterone actions in female reproduction. *Hum Reprod Update*, 2009 ; **15** : 119~138.
- 5) Zhu Y, Hanna RN, Schaaf MJ, *et al* : Candidates for membrane progestin receptors—past approaches and future challenges. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2008 ; **148** : 381~389.
- 6) Fernandes MS, Brosens JJ, Gellersen B : Honey, we need to talk about the membrane progestin receptors. *Steroids*, 2008 ; **73** : 942~952.
- 7) Thomas P : Characteristics of membrane progestin receptor alpha (mPRalpha) and progesterone membrane receptor component 1 (PGRMC1) and their roles in mediating rapid progestin actions. *Front Neuroendocrinol*, 2008 ; **29** : 292~312.
- 8) Dressman HK, Hans C, Bild A, *et al* : Gene expression

- profiles of multiple breast cancer phenotypes and response to neoadjuvant chemotherapy. *Clin Cancer Res*, 2006 ; **12** : 819~826.
- 9) Craven RJ : PGRMC1 : a new biomarker for the estrogen receptor in breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2008 ; **10** : 113.
- 10) Causey MW, Huston LJ, Harold DM, *et al* : Transcriptional Analysis of Novel Hormone Receptors PGRMC₁ and PGRMC2 as Potential Biomarkers of Breast Adenocarcinoma Staging. *J Surg Res*, 2010 May 20.
- 11) Crudden G, Loesel R, Craven RJ : Overexpression of the cytochrome p 450 activator hpr6 (heme-1 domain protein/human progesterone receptor) in tumors. *Tumour Biol*, 2005 ; **26** : 142~146.
- 12) Irby RB, Malek RL, Bloom G, *et al* : Iterative microarray and RNA interference-based interrogation of the SRC-induced invasive phenotype. *Cancer Res*, 2005 ; **65** : 1814~1821.
- 13) Difilippantonio S, Chen Y, Pietas A, *et al* : Gene expression profiles in human non-small and small-cell lung cancers. *Eur J Cancer*, 2003 ; **39** : 1936~1947.
- 14) Peluso JJ, Liu X, Saunders MM, *et al* : Regulation of ovarian cancer cell viability and sensitivity to cisplatin by progesterone receptor membrane component-1. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008 ; **93** : 1592~1599.
- 15) Peluso JJ, Gawkowska A, Liu X, *et al* : Progesterone receptor membrane component-1 regulates the development and Cisplatin sensitivity of human ovarian tumors in athymic nude mice. *Endocrinology*, 2009 ; **150** : 4846~4854.
- 16) Crudden G, Chitti RE, Craven RJ : Hpr6 (heme-1 domain protein) regulates the susceptibility of cancer cells to chemotherapeutic drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006 ; **316** : 448~455.
- 17) Meyer C, Schmid R, Scriba PC, *et al* : Purification and partial sequencing of high-affinity progesterone-binding site (s) from porcine liver membranes. *Eur J Biochem*, 1996 ; **239** : 726~731.
- 18) Meffre D, Delespierre B, Gouézou M, *et al* : The membrane-associated progesterone-binding protein 25-Dx is expressed in brain regions involved in water homeostasis and is up-regulated after traumatic brain injury. *J Neurochem*, 2005 ; **93** : 1314~1326.
- 19) Gerdes D, Wehling M, Leube B, *et al* : Cloning and tissue expression of two putative steroid membrane receptors. *Biol Chem*, 1998 ; **379** : 907~911.
- 20) Selmin O, Lucier GW, Clark GC, *et al* : Isolation and characterization of a novel gene induced by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rat liver. *Carcinogenesis*, 1996 ; **17** : 2609~2615.
- 21) Cai Z, Stocco C : Expression and regulation of progesterone membrane receptors in the rat corpus luteum. *Endocrinology*, 2005 ; **146** : 5522~5532.
- 22) Peluso JJ, Liu X, Gawkowska A, *et al* : Progesterone activates a progesterone receptor membrane component 1-dependent mechanism that promotes human granulosa/luteal cell survival but not progesterone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009 ; **94** : 2644~2649.
- 23) Ghosh K, Thompson AM, Goldbeck RA, *et al* : Spectroscopic and biochemical characterization of heme binding to yeast Dap1p and mouse PGRMC1p. *Biochemistry*, 2005 ; **44** : 16729~16736.
- 24) Min L, Strushkevich NV, Harnastai IN, *et al* : Molecular identification of adrenal inner zone antigen as a heme-binding protein. *FEBS J*, 2005 ; **272** : 5832~5843.
- 25) Mifsud W, Bateman A : Membrane-bound progesterone receptors contain a cytochrome b5-like ligand-binding domain. *Genome Biol*, 2002 ; **3** : RESEARCH0068.
- 26) Hughes AL, Powell DW, Bard M, *et al* : Dap1/PGRMC1 binds and regulates cytochrome P450 enzymes. *Cell Metab*, 2007 ; **5** : 143~149.
- 27) Hughes AL, Powell DW, Bard M, *et al* : Dap1/PGRMC1 binds and regulates cytochrome P450 enzymes. *Cell Metab*, 2007 ; **5** : 143~149.
- 28) Rohe HJ, Ahmed IS, Twist KE, *et al* : PGRMC1 (progesterone receptor membrane component 1) : a targetable protein with multiple functions in steroid signaling, P450 activation and drug binding. *Pharmacol Ther*, 2009 ; **121** : 14~19.
- 29) Yang T, Espenshade PJ, Wright ME, *et al* : Crucial step in cholesterol homeostasis : sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER. *Cell*, 2002 ; **110** : 489~500.
- 30) Min L, Takemori H, Nonaka Y, *et al* : Characterization of the adrenal-specific antigen IZA (inner zone antigen) and its role in the steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2004 ; **215** : 143~148.
- 31) Zhang L, Kanda Y, Roberts DJ, *et al* : Expression of progesterone receptor membrane component 1 and its partner serpine 1 mRNA binding protein in uterine and placental tissues of the mouse and human. *Mol Cell Endocrinol*, 2008 ; **287** : 81~89.
- 32) Peluso JJ, Romak J, Liu X : Progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) is the mediator of progesterone's antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells as revealed by PGRMC1

- small interfering ribonucleic acid treatment and functional analysis of PGRMC1 mutations. *Endocrinology*, 2008 ; **149** : 534~543.
- 33) Peluso JJ, Liu X, Gawkowska A, *et al* : Progesterone inhibits apoptosis in part by PGRMC1-regulated gene expression. *Mol Cell Endocrinol*, 2010 ; **320** : 153~161.
- 34) Denny WA : Prodrug strategies in cancer therapy. *Eur J Med Chem*, 2001 ; **36** : 577~595.
- 35) Hockel M, Schlenger K, Aral B, *et al* : Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res*, 1996 ; **56** : 4509~4515.
- 36) Vaupel P, Mayer A : Hypoxia in cancer : significance and impact on clinical outcome. *Cancer Metastasis Rev*, 2007 ; **26** : 225~239.
- 37) Brown JM, Wilson WR : Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer*, 2004 ; **4** : 437~447.
- 38) Boyle RG, Travers S : Hypoxia : targeting the tumour. *Anticancer Agents Med Chem*, 2006 ; **6** : 281~286.
- 39) Ahn GO, Brown M : Targeting tumors with hypoxia-activated cytotoxins. *Front Biosci*, 2007 ; **12** : 3483~3501.
- 40) McKeown SR, Cowen RL, Williams KJ : Bioreductive drugs : from concept to clinic. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2007 ; **19** : 427~442.
- 41) Sullivan R, Graham CH : Hypoxia-driven selection of the metastatic phenotype. *Cancer Metastasis Rev*, 2007 ; **26** : 319~331.
- 42) Bressenot A, Marchal S, Bezdetnaya L, *et al* : Assessment of apoptosis by immunohistochemistry to active caspase-3, active caspase-7, or cleaved PARP in monolayer cells and spheroid and subcutaneous xenografts of human carcinoma. *J Histochem Cytochem*, 2009 ; **57** : 289~300.

Summary

The analysis of PGRMC₁ expression and function in endometrial cancer cells

HIROSHI KANEDA

PGRMC₁ (progesterone receptor membrane component 1), one of the progesterone receptor purified from porcine liver membranes in 1996, is widely seen in human kidney, liver, endometrium and ovary relatively strong expressed. Its functions which are metabolism and synthesis of steroid hormones and electrolyte have been elucidated in a variety cells including anti-apoptosis action in spontaneously immortalized granulosa cells. PGRMC₁ also has been seen in breast cancer cells, thyroid, colon, lung, ovarian cancer, especially in breast cancer the expression of PGRMC₁ was reported to have an association with prognosis, which indicates PGRMC₁ can have a role in tumorigenesis.

PGRMC₁ are also highly expressed in Ishikawa cell, human endometrial cancer cells, in which PI3K/AKT and MAPK pathway are over-expressed. PGRMC₁ knock-down showed to reduce the expression of PDK1 and phosphorylated-AKT on the PI3K/AKT signal pathway, but no effect on MAPK signaling.

Furthermore PGRMC₁ knock-down showed to induce apoptosis and, under hypoxic stress showed anti-tumor effects by suppressing the activity in Ishikawa cell.

Our works indicates that in endometrial cancer cell, PGRMC₁ can have a crosstalk with PI3K/AKT signal pathway through PDK1 and AKT to maintain the cell for survival.

The results suggest that the regulation of PGRMC₁ is critical for Ishikawa cells, therefore PGRMC₁ can be a one potential molecular target for the therapeutic treatment of endometrial cancer.

Key words : PGRMC₁, endometrial cancer, progesterone receptor, PI3K/AKT pathway, phosphorylated-AKT