

P-33 ヒト7番染色体の絨毛癌抑制 遺伝子
単離

九大・生医研

松田貴雄, 有馬隆博, 和氣徳夫

[目的] ヒト7番染色体上に存在するERV3-Alu-H-plk遺伝子発現は, 侵入奇胎及び絨毛癌で選択的に抑制されており, 同領域の絨毛癌発生の分子機構への関与が示唆されている. 本研究ではヒト7番染色体及び上述の遺伝子領域と絨毛癌との関連を研究した.

[方法] 1) 様々なヒト染色体を単一で保有するマウスA9細胞ライブラリーを用い, 絨毛癌細胞(CCI)と微小核融合を行った. 2) ERV3遺伝子env領域の約400bpをRT-PCRにより増幅し, その発現を検討した. 3) ERV3-Alu-H-plk遺伝子周辺のコンテイング作成のためCEPHメガYACDNAプールを作成した.

[成績] 1) 正常ヒト細胞由来7番染色体をCCI細胞に単一移入した結果, その造腫瘍性は顕著に抑制された. 2) ERV3遺伝子env領域約400bpは, 発現の程度に差を認めるものの, 検討した絨毛癌細胞5株で全て発現を認めた. 3) 約15個の7番染色体特異的メガYACクローンを得た.

[結論] 1) ヒト7番染色体上には絨毛癌細胞の造腫瘍性の抑制に関与する癌抑制 遺伝子の存在が示唆された. 2) しかし7番染色体上のERV3-Alu-H-plkの発現を絨毛癌細胞で認めたため, 同領域以外の部分に絨毛癌抑制 遺伝子が存在すると想定された.

P-34 絨毛癌細胞株に存在するHLA-G遺伝子プロモーター結合蛋白の解析

市立伊丹病院, 大阪通信病院*

木村俊夫, 脇本昭憲*, 福田真理子, 河本明子*, 山田美津子, 川村泰弘*, 浅田昌宏

[目的] trophoblastにおける主要組織適合抗原(HLA)の発現はその分化に伴って巧みに制御を受けている。extravillous shellに存在する cytotrophoblastにはHLA-Gが特異的に発現することが報告され, 免疫学的妊娠維持機構を解析する上で興味深い。本研究ではtrophoblastのモデルとして絨毛癌細胞株を用いてHLA-Gの発現と核内因子を解析した。[方法] ①絨毛癌細胞株BeWo, NUC1, HCCM5, GCH1, SCHから全RNAを抽出し, HLA-B₇およびHLA-G遺伝子の特異的プローブを用いてNorthern解析を行った。②各細胞株からDignamらの方法によって粗核蛋白を抽出し, HLA-A₂遺伝子およびHLA-G遺伝子上流域約200-400bpを32Pで末端ラベルし, 核蛋白との結合をゲル移動度シフト法で解析した。③HLA-A, B, Cの転写調節因子であるNFκB(p50)に対する特異抗体を添加してDNA蛋白複合体の変化を観察した。[成績] ①絨毛癌細胞株のうちBeWoからのRNAにHLA-GのmRNAを, SCH, NUC1, HCCM5にはHLA-A, B, CのmRNAを検出した。②ゲル移動度シフト法の解析で, SCH, NUC1, HCCM5からの核蛋白とHLA-A₂遺伝子上流のエンハンサーAの部位との結合が観察され, このDNA蛋白複合体は抗p50抗体の添加によって濃度依存的に移動度が変化した。③BeWoからの核蛋白はHLA-G上流域と強く結合し, この結合は抗p50抗体の影響を受けなかった。④BeWoからの核蛋白はNFκB結合部位であるエンハンサーA領域と異なるHLA-G遺伝子上流域を認識した。[結論] 絨毛癌細胞株BeWoにはHLA-Gが発現し, その核内因子にはHLA-A, B, Cの転写調節因子NFκBと異なる因子が存在することが示唆された。