

91 カチオニックリポソームを用いた卵巢癌株への遺伝子導入における発現効率と細胞内導入遺伝子量との相関

新潟大

芹川武大, 菊池 朗, 田中憲一

〔目的〕卵巢癌の遺伝子治療に向け新規に開発したカチオニックリポソーム (DC6-14; DOPE: Chol 4:3:3) を用いてヒト卵巢癌株に遺伝子を導入し, 発現効率と細胞内遺伝子量を経時的に比較検討し, 細胞間での発現効率の異なる機構を解明し, 向上を目指す. 〔方法〕1. 4種類の卵巢癌株 (HRA, ES-2, Nakajima, OVHS-1) に血清添加培地中でGFP発現プラスミドをリポソームにより導入し, FACSを用いてその発現効率を算出した. 2. 光活性化により蛍光標識したプラスミドを, 同様に卵巢癌株に導入し, FACSを用いてその細胞の自家蛍光に対する蛍光強度の比を算出し, 細胞内遺伝子量の指標とした. 〔成績〕1. HRA, ES-2での発現効率は25.7, 32.1%と高く, 一方Nakajima, OVHS-1は5.9, 2.2%と低く, 高, 低発現群とに分けられた. 高発現群では導入後4時間より発現し始めたが, 低発現群では8時間から発現した. 2. 全ての細胞株において導入後2時間では, 蛍光標識プラスミドを導入した細胞の蛍光強度比は0.97~1.08と有意な差を認めなかった. しかしながら, HRAは4, 8, 12時間で1.41, 1.47, 1.48と低発現群での1.02~1.14と比較して有意に高かった. ES-2では4時間で1.33と有意に高く, 8, 12時間においても1.31, 1.24と高い傾向を認めた. 24時間では高発現群においても低下し, 全ての細胞株において1.01~1.13と有意な差を認めなかった. 〔結論〕発現効率と細胞内遺伝子量との相関性が示された. 導入2時間後では差を認めないことから, 遺伝子の導入速度には差はなく, その後の代謝活性に細胞株間で差があることが示唆され, この代謝の制御により発現効率が高められることが期待される.

92 上皮性卵巢癌における遺伝子不安定性 (microsatellite instability) の研究

自治医大

大和田倫孝, 鈴木光明, 嵯峨 泰, 高見澤聡, 佐藤郁夫

〔目的〕散発性上皮性卵巢癌の発生・進展に p53 やK-ras の異常が一部で指摘されているが, 分子生物学的病因についてはほとんど解明されていない. 最近, 遺伝性非ポリポーシス大腸癌の発生にDNAミスマッチ修復遺伝子(MMR)の異常が関与することが明らかとなった. そこで我々は上皮性卵巢癌を対象にMMRの異常を遺伝子不安定性 (microsatellite instability: MI) から検討した.

〔方法〕散発性上皮性卵巢癌78例 (漿液34, 粘液29, 明細胞11, 類内膜3, 未分化1) を対象とした. ホルマリン固定パラフィン包埋組織より癌および正常組織それぞれからDNAを抽出した後, MIを5 loci の microsatellite 領域 (TP53, D2S123, D3S1029, D3S1611, D18S34) でPCRを行い検討した. 4 loci 以上でPCR product の得られた症例をinformativeとし, 1 locus 以上でextrabandあるいはband shift の認められた症例をMI (+) と定義した.

〔成績〕1. 78例中informative 症例は76例であった. 変異のみられたlocus に有意な偏りはみられなかった. 2. MI (+) 症例は全体で22% (17/76) であった. 7症例では2 loci 以上で変異がみられた. 3. 粘液性では38% (11/29) がMI (+) で, 漿液性 (13%, 4/32) や明細胞 (9%, 1/11) に比べて有意に高率であった ($p < 0.05$). 4. G1症例では31% (11/36) で, G2+G3症例 (13%, 5/39) より高率であった ($p < 0.1$). 5. 年齢, 進行期では有意差はみられなかった. 6. MI (+) と (-) の症例間に, 予後の差はみられなかった.

〔結論〕上皮性卵巢癌ではMI (+) が22%を示し, とくに粘液性腺癌で高率 (38%) であったことから, その発生・進展に遺伝子不安定性が関与していることが示唆された. なおMIは予後因子とはならなかった.