

分子生物学的手法による絨毛性疾患の DNA の分析 —特に hPL ならびに hCG (α , β) の遺伝情報について—

神戸大学医学部産科婦人科学教室

保科 眞 アービング ボイメ 望月 眞人

Molecular Biological Analysis of the DNA in Trophoblastic Disease

Makoto HOSHINA, Irving BOIME* and Matsuto MOCHIZUKI

*Department of Obstetrics and Gynecology, Kobe University School of Medicine, Kobe***Department of Pharmacology, Washington University School of Medicine, U.S.A.*

概要 正常絨毛ならびにヒト白血球, 胎状奇胎, 絨毛癌組織より抽出した genomic DNA についてクローン化した hPL, hCG (α , β) の complementary DNA (cDNA) を用いて, 各々の遺伝情報部分の構造を検討した。

その結果, 制限酵素 (restriction enzyme) による restriction pattern に関する限り, いずれの DNA もその基本構造に差異はなく, 特に hPL mRNA の消失と hCG (α , β) mRNA の相対的増加を示す絨毛癌の DNA 中にも正常 DNA と同一構造の hPL, hCG (α , β) の遺伝子があり, trophoblast の腫瘍化によるこれらの遺伝子の deletion (削除) あるいは amplification (増幅) が, この場合起っていないことを明らかにした。

また, hCG α 遺伝情報部分近傍の polymorphism をマーカーとして, 胎状奇胎の病因論としての androgenetic origin (雄性発生) の妥当性を明らかにするとともに, 奇胎後絨毛癌の全例が homozygous DNA を示したことから, 奇胎の heterozygosity が必ずしも続発変化発症の risk factor ではないことを示した。

一方, 絨毛癌の hCG α 情報部分近傍の DNA は全ての例において正常 DNA にまれな構造を示したことより, この DNA 部分が絨毛癌発症と何らかの関係を持つ可能性を示した。

Synopsis Genomic DNAs extracted from normal placenta, white blood cells, hydatidiform mole and choriocarcinoma were examined to see if they had the same coding structure for hPL, hCG α and hCG β using each of the complementary DNAs.

The restriction analysis of these genomic DNAs showed the same pattern even for the DNA of choriocarcinoma that transcribed no hPLmRNA but a relatively high level of hCG(α , β)mRNA. We considered that during trophoblastic malignant transformation, neither the gene deletion for hPL nor the gene amplification for hCG occurred.

Moreover, the genomic DNA sequence in hCG α gene has polymorphic restriction sites designated as R $^{\pm}$ and H $^{\pm}$. Using these polymorphisms, we confirmed the hypothesis that a hydatidiform mole develops from an androgenetic origin. We also observed that it is possible that a hydatidiform mole having R $^{-}$ and H $^{+}$ homozygous DNA may develop into a choriocarcinoma. These observation suggested that some intervening sequence between these polymorphic sites is related to the tumoregenesis of choriocarcinoma.

Key words: Trophoblastic disease • Restriction analysis • Polymorphism

緒 言

著者らは既に正常絨毛, 胎状奇胎, 絨毛癌の各々の組織中における hPL, hCG (α , β) mRNA の局在を分子生物学的手法 (in situ hybridization) により観察し¹²⁾²³⁾²⁴⁾, その結果, hPL や hCG (α , β) の遺伝子発現と trophoblast の分化ならびに脱分

化 (腫瘍化) が密接な関係にあることを明らかにして, これを本誌に発表した²⁾。

即ち, trophoblast が腫瘍化すると hPL mRNA の転写は減少し, 対称的に hCG (α , β) mRNA の転写はむしろ増加するという現象を示し, 特に絨毛癌では hPL mRNA がほぼ消失するのに対し

hCG (α, β) mRNA は著明に転写されていた。したがって trophoblast の腫瘍化に伴い hPL や hCG (α, β) の mRNA の DNA からの転写も直接的影響を受けていると推察される。さらに, trophoblast の腫瘍化を担う DNA 部分 (oncogene) が hPL や hCG (α, β) の DNA 構造部分と何らかの関係を持つ可能性がある³⁾²⁵⁾²⁶⁾。

そこで著者らは正常絨毛あるいはヒト白血球, 胞状奇胎, 絨毛癌より抽出した DNA について, hPL と hCG (α, β) の遺伝情報部分に差異があるか否かをクローン化した complementary DNA (cDNA) による hybridization 法により解析した。

また, hCG α の遺伝情報部分近傍には制限酵素 Hind III と EcoR I の認識部位があり, この部位について polymorphism のあることがすでに知られているので³⁾¹⁵⁾, この polymorphism をマーカーとして絨毛性疾患患者ならびに組織中の DNA を遺伝学的に分析することが可能である。

そこで, 絨毛性疾患患者ならびにその夫より得た DNA の polymorphism を腫瘍から得た DNA のそれと比較し, 胞状奇胎の androgenetic origin の妥当性や絨毛癌発症との関係を分子生物学的に検討した。

実験方法

1) cDNA の調製

hPL ならびに hCG (α, β) に対応する cDNA を pBR 322 に挿入し, 大腸菌 HB 101 に感染させてクローン化した。cDNA の調製については既に詳細に報告した^{10)~12)14)23)24)}。

2) genomic DNA の調製と制限酵素による消化

正常絨毛ならびに胞状奇胎の細胞核は人工妊娠中絶時に得られた絨毛を 5% クエン酸液中でホモジネートし, 次に 5% クエン酸, 30% ショ糖液上で遠沈 (700×G 5 分間) することによつて採取した¹⁵⁾。一方, 絨毛癌では大きな腫瘍塊が得られた 1 例を除いて, 癌細胞を培養, 株化し, 母体組織の混入のないことを確認した後これらの組織から細胞核を得た。また, 絨毛性疾患患者とその夫からは溶血法により白血球を得²⁹⁾, これより DNA を

抽出した。

細胞核懸濁液を 0.5% protenase (Boehlinger) 1% SDS で処理 (45°C 3 時間) し蛋白部分を消化した後, phenol/chloroform 法で核酸を抽出, 次に R Nase (20 μ g/ml, 37°C, 1 時間) で核酸の RNA 部分を消化し, 再度 phenol/chloroform 抽出を行つた後, 冷エタノール中で DNA を析出させた。

細胞核より抽出した高分子 DNA, 10 μ g を 10~20 単位の制限酵素 (EcoR I, Hind III, Kpn I, Bam HI, Hha I, Xba I) で消化 (37°C 8~10 時間) し EDTA と熱処理 (68°C, 5 分) で不活化した後, 電気泳動した¹⁵⁾。

3) 電気泳動と hybridization

制限酵素で消化した高分子 DNA は 0.9% 寒天ゲル (泳動条件: 50mM トリス, 硼酸, 1mM EDTA, 16~25V, 12~18 時間) で泳動し塩酸溶液 (0.25 Mol 5 分) と苛性ソーダ溶液 (0.5Mol 90 分) で小分子一本鎖 DNA に変性させた後, Southern の方法³⁵⁾で nitrocellulose filter にこの DNA を移した。

この filter についてあらかじめ nick translation 法¹²⁾¹⁵⁾²³⁾により ³²P で標識した各々の cDNA (hPL, hCG α , hCG β) をプローブとして Denhardt²³⁾溶液中で DNA-cDNA hybridization (42°C, 24 時間) を行い, filter を洗浄, 乾燥後エンハンスフィルターとともにオートラジオグラフを作製し, genomic DNA 中の特異 DNA 部分 (hPL, hCG α , hCG β) の構造を解析した¹⁵⁾。

実験成績

1) hPL cDNA による hybridization

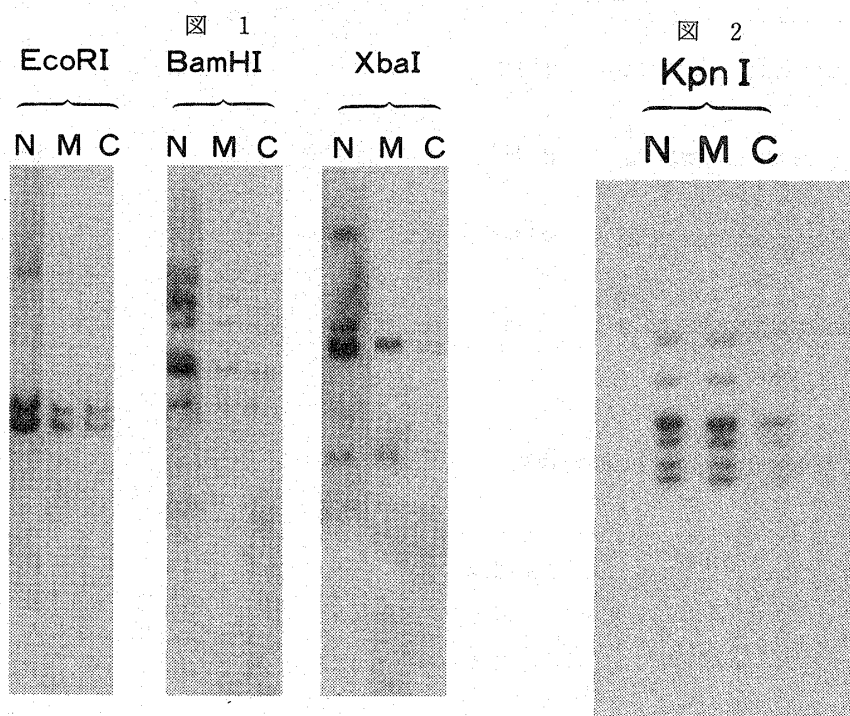
正常絨毛, 胞状奇胎, 絨毛癌より抽出した DNA を制限酵素 (EcoR I, Bam HI, Xba I, Hind III, Kpn I) で消化した後, ³²P 標識 hPL cDNA と hybridization させ, 各々の DNA の hPL 遺伝情報の構造を比較した。

図 1 はその成績をしめしており, EcoR I, Bam HI, Xba I による restriction pattern を含め, 著者らが行つたどの制限酵素の消化においても正常絨毛, 胞状奇胎, 絨毛癌ともに同一の pattern であった。

図 1, 2 hPL cDNA (図 1) ならびに hCG β cDNA (図 2) と hybridization させた restriction pattern

N: normal placenta, M: hydatidiform mole, C: choriocarcinoma

各々の組織より抽出した DNA を EcoR I, Bam HI, Xba I あるいは Kpn I などの制限酵素で消化した後、電気泳動し、さらにこれらの DNA を filter に移行した後、図 1 では³²P 標識 hPL cDNA と、また図 2 では³²P 標識 hCG β cDNA と hybridization させ特異的 DNA の restriction pattern をラジオオートグラムとして観察した。図 1 ならびに図 2 において、どの酵素の消化の場合も、正常胎盤、胎状奇胎、絨毛癌-DNA は同様の pattern を示している。



2) hCG β cDNA による hybridization

hPL の場合と同様、正常絨毛、胎状奇胎、絨毛癌より抽出した DNA を制限酵素で消化し³²P 標識 hCG β cDNA と hybridization させた。図 2 は Kpn I による消化を示している。いずれの DNA も 6 つのバンドよりなる同様の pattern を示しており、また、他の制限酵素による消化でも同一の pattern を示したことから hCG β の遺伝情報部分についても正常 DNA と絨毛性腫瘍の DNA との間に差がないと考えられた³⁾。

3) hCG α cDNA による hybridization

hCG α の遺伝情報部分の構造については、M. Boothby et al¹⁵⁾ がすでに制限酵素地図 (restriction map) を作製し詳細に検討しているが、その基本的構造は絨毛性疾患の DNA も正常絨毛 DNA と差がなかったとしている。

しかし、hCG α の遺伝情報部分の 3' 末端近くの

Hind III ならびに EcoR I 制限酵素認識部位には polymorphism があり³⁾、著者らの成績でも図 3 のごとく haploid としては 4 種類の DNA 構造が観察された。そこで、EcoR I, 0 kb 認識部位より下流の +5 kb の位置で EcoR I 認識部位の有るものを R⁺、ないものを R⁻、また、+2kb の位置で Hind III 認識部位の有るものを H⁺、無いものを H⁻ と名付け R⁺H⁻, R⁻H⁺, R⁺H⁺, R⁻H⁻ の 4 種類の haploid に分類した。

したがって、diploid である genomic DNA では表 1 に示した組み合わせとなるが、対角線上にあたる組み合わせ (斜線部分) は重複するので、実際上は表 2 のごとく 9 通りの組み合わせとなる。

また、genomic DNA を EcoR I あるいは Hind III で消化し³²P 標識 hCG α cDNA と hybridization させると図 4 のごとく、EcoR I については R⁺R⁺, R⁺R⁻, R⁻R⁻, Hind III については H⁺H⁺,

図3 hCG α 遺伝情報部分近傍にある restriction polymorphism の模式的分類

R: EcoR I 認識部位, H: Hind III 認識部位

IV は介在性 DNA により 4 つの部分に分断された hCG α 遺伝情報の第 IV 番目 (3' 末端) の部分を示している。第 I~III 番目の情報部分中には、現在のところ polymorphism がみつかつておらず、この図にも示されていない。

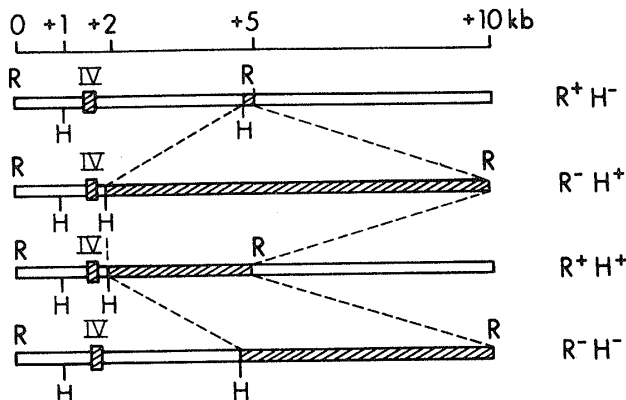


表1 図3に示した4種類の polymorphism の理論的組み合わせ

	R ⁺ H ⁻	R ⁻ H ⁺	R ⁺ H ⁺	R ⁻ H ⁻
R ⁺ H ⁻	R ⁺ R ⁺ H ⁻ H ⁻	R ⁺ R ⁻ H ⁺ H ⁻	R ⁺ R ⁺ H ⁺ H ⁻	R ⁺ R ⁻ H ⁻ H ⁻
R ⁻ H ⁺	R ⁻ R ⁺ H ⁻ H ⁺	R ⁻ R ⁻ H ⁺ H ⁺	R ⁻ R ⁺ H ⁺ H ⁺	R ⁻ R ⁻ H ⁻ H ⁺
R ⁺ H ⁺	R ⁺ R ⁺ H ⁻ H ⁺	R ⁺ R ⁻ H ⁺ H ⁺	R ⁺ R ⁺ H ⁺ H ⁺	R ⁺ R ⁻ H ⁺ H ⁺
R ⁻ H ⁻	R ⁻ R ⁺ H ⁻ H ⁻	R ⁻ R ⁻ H ⁻ H ⁻	R ⁻ R ⁺ H ⁻ H ⁻	R ⁻ R ⁻ H ⁻ H ⁻

表2 実際に検出される9通りの hCG α 遺伝子近傍の polymorphism の組み合わせ

	EcoRI	R ⁺ R ⁺	R ⁺ R ⁻	R ⁻ R ⁻
Hind III				
H ⁻ H ⁻		R ⁺ R ⁺ H ⁻ H ⁻	R ⁺ R ⁻ H ⁻ H ⁻	R ⁻ R ⁻ H ⁻ H ⁻
H ⁺ H ⁻		R ⁺ R ⁺ H ⁺ H ⁻	R ⁺ R ⁻ H ⁺ H ⁻	R ⁻ R ⁻ H ⁺ H ⁻
H ⁺ H ⁺		R ⁺ R ⁺ H ⁺ H ⁺	R ⁺ R ⁻ H ⁺ H ⁺	R ⁻ R ⁻ H ⁺ H ⁺

H⁺H⁻, H⁻H⁻ の polymorphism が観察された。そこで、表2にしめした9通りの polymorphism の組み合わせをマーカーとして以下の遺伝学的 DNA の分析を行った。

図4 ラジオオートグラムにより観察される hCG α 遺伝情報部分近傍の restriction polymorphism

genomic DNA を制限酵素 EcoR I あるいは Hind III で消化した後、電気泳動し ³²P 標識 hCG α cDNA と hybridization をさせオートラジオグラムとして検出したもので、EcoR I については1~3, Hind III については4~6の pattern があり、これらの組み合わせより DNA を表2のごとく分類した。

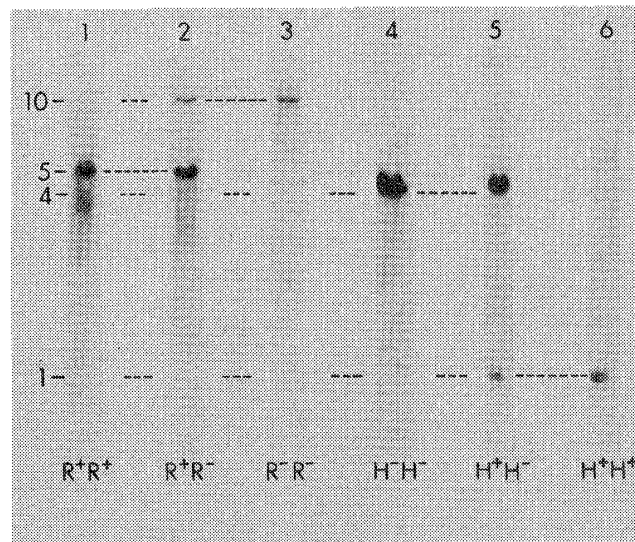


表3 正常胎盤より抽出した DNA の polymorphism の分布

	EcoRI	R ⁺ R ⁺	R ⁺ R ⁻	R ⁻ R ⁻
Hind III				
H ⁻ H ⁻		13 (54.2)	—	—
H ⁺ H ⁻		1 (4.2)	7 (29.2)	—
H ⁺ H ⁺		—	1 (4.2)	2 (8.3)

表4 正常胎盤ならびに白血球より抽出した DNA の polymorphism の分布

	EcoRI	R ⁺ R ⁺	R ⁺ R ⁻	R ⁻ R ⁻
Hind III				
H ⁻ H ⁻		26 (35.6)	7 (9.6)	—
H ⁺ H ⁻		4 (5.5)	26 (35.6)	—
H ⁺ H ⁺		—	1 (1.3)	9 (12.3)

i) 正常胎盤 DNA

正常胎盤 DNA 24 例を分析し、表2にしたがって分類した結果、表3のごとく R⁺R⁺, H⁻H⁻ (R⁺H⁻ homozygote) 54.2%, R⁻R⁻H⁺H⁺ (R⁻H⁺ homozygote) 8.3% で R⁺R⁻H⁺H⁻ (heter-

ozygote)は29.2%であつた。また、その他の DNA を含めた73例の場合も表4のごとく、 R^+H^- -homozygote 35.6%, $R^+R^-H^+H^-$ -heterozygote 35.6% でいずれの場合も R^+H^+ -homozygote, R^-H^- -homozygote は全く見られなかつた。したがつて、図3で分類した haploid としての polymorphism は R^+H^- が大半をしめ、次いで R^-H^+ が一般的であるが、一方、 R^+H^+ , R^-H^- の haploid は極めてまれといえる。

ii) 胞状奇胎 DNA

表5は12例の胞状奇胎の分析結果を示しており、11例(91.6%)が homozygous であつた。表7は胞状奇胎 DNA に加えて患者ならびにその夫の DNA を分析し遺伝学的背景をみたものである。

いずれの症例も父親由来と推定される染色体で構成されており、特に症例 To Gl は母親が homozygous R^-H^+ なので R^+H^- の遺伝子は父親に由来しており、しかも父親は R^+H^-/R^-H^+ の heterozygote なので R^+H^+ を示す精子が duplication したことを示している。症例 GaKl は唯一の

表5 胞状奇胎より抽出した DNA の polymorphism の分布

EcoRI Hind III	R^+R^+	R^+R^-	R^-R^-
H^-H^-	10 (83.3)	—	—
H^+H^-	—	1 (8.3)	—
H^+H^+	—	—	1 (8.3)

表6 絨毛癌より抽出した DNA の polymorphism の分布

EcoRI Hind III	R^+R^+	R^+R^-	R^-R^-
H^-H^-	—	1 (16.7)	—
H^+H^-	1 (16.7)	—	—
H^+H^+	—	—	4 (66.7)

heterozygous な例(12例中1例)であるが父、母ともに R^+H^-/R^-H^+ の heterozygous な DNA なので、おそらくは父親由来の dispermic origin の胞状奇胎と考えられた³²⁾。

iii) 絨毛癌 DNA

表7 絨毛性疾患の腫瘍組織、患者ならびに夫の白血球より抽出した DNA の polymorphism による遺伝学的比較。

HM : hydatidiform mole

Cho←HM : 胞状奇胎を先行妊娠とする絨毛癌

Cho←NP : 正常妊娠を先行妊娠とする絨毛癌

R^+H^- , R^-H^+ などは homozygous diploid DNA を示す。 R^+H^-/R^-H^- の場合、相同遺伝子は R^+H^- と R^-H^- として確定されるが、 R^+H^-/R^-H^+ の場合はその各々が R^+H^- と R^-H^+ の相同遺伝子であると強く推定されるものの、まれには R^+H^+ と R^-H^- の可能性もある。——は遺伝子の由来が父方かあるいは母方が確定されるが、——はその由来が強く推定されるにとどまる。——?は R^+H^+ の遺伝子が tumoregenesis の間に何らかの変異 (mutation) を受けたと想像されるが、この夫の DNA が遺伝学的に夫でない可能性も否定出来ない。

Case	Diagnosis	Tumor	Mat.	Pat.
MiDa	HM	R^+H^-	R^+H^-/R^-H^+	R^+H^-/R^-H^-
EmJo	HM	R^+H^-	R^+H^-/R^-H^-	R^+H^-/R^-H^+
GaKl	HM	R^+H^-/R^-H^+	R^+H^-/R^-H^+	R^+H^-/R^-H^+
ToGl	HM	R^+H^-	R^-H^+	R^+H^-/R^-H^+
NiMa	HM	R^+H^-	R^+H^+/R^+H^-	R^+H^-
WiEd	Cho←HM	R^-H^+	R^+H^-/R^-H^+	R^+H^-/R^-H^+
ElFa	Cho←HM	R^-H^+	R^+H^-	$R^+H^-/R^+H^+?$
ZiSa	Cho←HM	R^-H^+	—	R^+H^-/R^-H^+
BaNa	Cho←NP	R^+H^-/R^+H^+	R^+H^+/R^-H^-	R^+H^-/R^-H^-

同様の分析を絨毛癌 DNA について行つた結果を表 6 に示すが, 6 例中 4 例が homozygous であり, しかも正常胎盤や胞状奇胎 DNA には少ない $R^{-}H^{+}$ を示していた. 他の 2 例も $R^{+}H^{+}/R^{+}H^{-}$ heterozygous と $R^{+}H^{-}/R^{-}H^{-}$ heterozygous でこれらも正常 DNA にはまれな組み合わせである. 特に $R^{+}H^{+}$ や $R^{-}H^{-}$ などの正常にはまれな polymorphism を示す haploid を少なくとも 1 個持っていた(図 3 $R^{+}H^{+}$, $R^{-}H^{-}$). また, 正常 DNA で最も頻度の高い $R^{+}H^{-}$ homozygous は 1 例も認められなかった.

絨毛癌 DNA について家族的分析を行えた 4 例についてみると表 7 のごとく胞状奇胎を先行妊娠として発症した絨毛癌はいずれも $R^{-}H^{+}$ homozygous であった. 一方, 正常妊娠を先行妊娠とした絨毛癌 BaNa の場合は, heterozygous な DNA でしかも父親由来の遺伝子と母親由来の遺伝子の両方で構成されていた.

考 案

絨毛性疾患患者血中の hPL 値は比較的低値であり, 一方, hCG 値は高値を示すことがよく知られている^{5)7)~9)16)17)20)~22)31)}. また, 著者らは既に in situ hybridization により絨毛癌組織中の hPL mRNA がほぼ消失しているのに対し hCG (α, β) mRNA はむしろ増加していることを明らかにした²⁾¹²⁾²³⁾²⁴⁾²⁶⁾.

そこで次の試みとして絨毛性疾患の各々の腫瘍組織(胞状奇胎, 絨毛癌)より抽出した DNA について cDNA-DNA hybridization により DNA の遺伝情報部分の構造を分析し正常 DNA のそれと比較した.

その結果, hPL mRNA を転写しない絨毛癌 DNA にも正常 DNA と同様の hPL 遺伝情報部分があり, また, hCG α や β の mRNA のようにその転写が相対的に増加する胞状奇胎や絨毛癌 DNA についても, 正常 DNA とほぼ同様の DNA 構造とコピー数があると考えられた. したがって絨毛性疾患の場合, hPL や hCG の遺伝情報について gene deletion²⁹⁾ や gene amplification¹⁸⁾ のような現象は起つていないといえる. つまり, 絨毛性疾患におけるこれらのペプチドの発現や消失

といった現象は DNA 遺伝情報の構造部分の直接的变化によるものではなく, おそらくはこれらのペプチドの遺伝情報部分近傍にある enhancer や operator などの regulatory gene の変化に基づいていると考えられる. そして, trophoblast の癌化の結果, これらの regulatory gene が何らかの影響を受けることにより, 各々の gene の増強や抑制が発現するものと考えられる.

ところで, hCG α 遺伝情報部分の DNA 構造については M. Boothby et al¹⁵⁾ が制限酵素地図 (restriction map) を作製し詳細に検討している. 周知のごとく hCG の α subunit は下垂体ホルモンである LH, FSH, TSH の α subunit と同一のアミノ酸配列を示し, また, α subunit を相互交換しても生物学的にも免疫学的にもそのホルモンとしての性格は変化しない. そこで, これらのペプチドの遺伝情報が, どのような相互関係にあるのか興味が持たれていたが M. Boothby や Fiddes et al¹⁹⁾ は α subunit の遺伝情報は haploid としての DNA 上に 1 箇所しかなく各々のホルモンは同一のコピーを共同利用していることを明らかにした. これは hCG β の遺伝情報部分が pseudo gene も含めると少なくとも 7 箇所, おそらくは 8 箇所以上あるのと対照的であり³⁾¹³⁾³¹⁾, α subunit の遺伝情報部分は極めて効率よく利用されているといえる. また, hCG, LH, FSH, TSH の α subunits の gene が 1 箇所しかないことから, これらのペプチドが同一の ancestral な gene から進化したと考えられる. さらに各々の β subunits は進化の過程の mutation と translocation により生じたと考えられるから, お互いに近接しおそらくは同一の染色体上にあると推察される.

ところで, hCG α 遺伝情報部分近傍にある制限酵素 EcoR I と Hind III 認識部位に関する haploid としての polymorphism は正常胎盤 DNA の場合は $R^{+}H^{-}$ の頻度が高く, 次いで $R^{-}H^{+}$ のものが一般的であり $R^{+}H^{+}$, $R^{-}H^{-}$ のタイプは極めてまれであることを示した.

さて, 胞状奇胎の 96~94% が homozygous androgenic origin であることは染色体分析ですで

に示されており²⁸⁾, しかも, その病因論として無核化した卵子内での精子の duplication が強く疑われている²⁷⁾.

そこで, これらの polymorphism をマーカーとして胞状奇胎 DNA を分析したところ, 91.6% が homozygous な DNA を示し, Kajii et al.²⁸⁾ や Jacob et al.²⁷⁾ が染色体分析で示した胞状奇胎の androgenetic origin という病因論とよく一致する. さらに, 胞状奇胎組織と患者ならびにその夫から得た DNA とを比較した成績でも同様の結果を得たことから, 分子生物学的手法を用いて Kajii et al. の見解を確認し得たことになる. 本法は今後, 分子生物学の発展に伴い cDNA の種類も急増すると考えられるので, 従来の染色体分析に加えて有力な遺伝学的アプローチとなろう. 特に染色体分析の困難な悪性腫瘍での解析に適していると思われる. また, 少なくとも90%以上の胞状奇胎が理論的に完全な homozygous な DNA を示すと考えられ, ヒト体細胞由来の DNA としては極めて特異であり, 例えば制限酵素や Southern³⁵⁾の方法で DNA 構造の解析を行う際にも相同染色対間の heteropolymorphism の可能性を無視し得るので胞状奇胎より抽出した DNA は分子生物学の分野でも有要な DNA として注目されるであろう³⁾.

ところで, 絨毛癌 DNA は6例中4例が R-H⁺ homozygous を示し, 特に胞状奇胎を先行妊娠とする絨毛癌は全て R-H⁺ homozygous であったことから, R-H⁺ homozygous を示す胞状奇胎は絨毛癌へ移行しやすい性格をもつものと思われる. しかし, 1例の R-H⁺ homozygosity を示した奇胎は現在のところ続発変化を起しておらず, また, 正常絨毛でも頻度は少ないが R-H⁺ homozygous を示した例もあるのでこの R-H⁺ の遺伝子が絨毛癌発症の絶体条件とはいえないようである. ただ正常 DNA における R-H⁺ homozygosity はその他の DNA 部分における homozygosity を必ずしも意味しないのに対し, 胞状奇胎の場合は前述の通り他の部分でも homozygous である可能性が極めて高いから, 例えば一方の遺伝子の oncogene が活性化された場合に

も他方の相対遺伝子の制御を受けることなく癌化が進むのかも知れない.

このような, われわれの考えは heterozygous な胞状奇胎が絨毛癌へ移行しやすいのではないかという染色体分析の結果¹⁾⁴⁾³⁶⁾と相反するものであるが, さらに症例を重ねて検討したい.

一方, 正常妊娠を先行妊娠とした症例 BaNa では明らかに両親の遺伝子が確認された. この場合, R-H⁻ 遺伝子が腫瘍組織中に検出されないことから母体組織の混入の可能性は否定できる. したがって, 正常妊娠を先行妊娠とする絨毛癌 DNA は父母両者の遺伝子からなるものと考えられ, 佐々木⁶⁾の報告に一致する.

さて, いずれの絨毛癌の場合にもその hCG α 遺伝情報部分近傍の polymorphism に特徴的なことは正常 DNA では頻度の低い R-H⁺, R⁺H⁺, R-H⁻ (図3)のいずれかの遺伝子を少なくとも1個持っているので EcoR I と Hind III の polymorphic site の間に (図3斜線部分) 絨毛の癌化に関連する遺伝情報があるのではないかと思われ, 今後 genomic DNA の DNA sequence³⁰⁾をも含めてその解明が待たれる.

cDNA のクローン化という遺伝子工学の進歩の結果, つい最近まで不可能と考えられていた特異的 mRNA の直接的検出や DNA 構造の分析などが可能となってきた. 例えば, β -thalassemia の発症と β -globine gene の polymorphism との関係などが明らかにされてきたし³³⁾, 腫瘍学においても, このような分子生物学的試みが癌発症の謎解明に大きな足掛となるのではないかと期待される. 今後, 蛋白の一次構造を決定する DNA sequence にとどまらず, その regulatory gene の分析は腫瘍学の核心にせまるものとなろう.

なお, 本研究の一部は文部省科学研究費一般 (B) 56480278によった.

文 献

1. 藤田博正, 大久保仁, 関 敏雄, 酒井慶一郎, 奥山和彦, 椎名美博, 和気徳夫, 一戸喜兵衛: 絨毛癌の発生に関する遺伝学的研究. 日産婦学会抄録集, 281, 1983.
2. 保科 眞, アービングボイメ, 望月真人: 分子生物学的手法による hPL ならびに hCG (α , β) 特異的 mRNA の絨毛組織内分布. 日産婦誌, 36: 397,

- 1984.
3. 保科 眞, 望月眞人: heteropolymorphism のないヒト 2 倍体 DNA. 細胞工学, 10: 1270, 1983.
 4. 本田 任, 佐藤英二, 宗像 寛, 菅原延夫, 福島 務: 全奇胎, 部分奇胎の続発変化に関する基礎的, 臨床的検討. 日産婦学会抄録集, 280, 1983.
 5. 望月眞人, 曹 洙鎔, 森川 肇, 平井 至: 絨毛性腫瘍管理における hPL と hCG の同時測定の意味. 産婦進歩, 25: 317, 1973.
 6. 佐々木茂: 絨毛癌細胞株についての細胞遺伝学的検討. 日産婦学会抄録集, 282, 1983.
 7. Ashitaka, Y., Nishimura, R., Takemori, M. and Tojo, S.: Production and secretion of hCG and hCG subunits by trophoblastic tissue. In Chorionic Gonadotropin, S.J. Segal, editor. Plenum Press, New York, 147, 1980.
 8. Bagshawe, K.D.: Choriocarcinoma, The Clinical Biology of the Trophoblast and its Tumours. 72. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1969.
 9. Biswas, S., Hindocha, P. and Dewhurst, C.J.: Human chorionic somatomammotropin in serum and urine in various state of pregnancy: Its correlation with enzymes and oestrogens. J. Endocrinol., 54: 251, 1972.
 10. Boime, I., McWilliams, D., Szczesna, E. and Camel, M.: Synthesis of human placental lactogen as a function of gestation. J. Biol. Chem., 251: 821, 1976.
 11. Boime, I., Landefeld, T., McQueen, S. and McWilliams, D.: The biosynthesis of chorionic gonadotropin and placental lactogen in first- and third trimester human placenta. in Structure and Function of the Gonadotropins. K.W. McKern, editor. Plenum Press, New York, 235, 1978.
 12. Boime, I., Boothby, M., Hoshina, M., McQueen, S.D. and Darnell, R.: Expression and structure of human placental hormone genes as a function of placental development. Biol. Repro., 26: 73, 1982.
 13. Boorstein, W.R., Vamvakopoulos, N.C. and Fiddes, J.C.: Human chorionic gonadotropin β -subunit is encoded by at least eight genes arranged in tandem and inverted pairs. Nature, 300: 419, 1982.
 14. Boothby, M., Daniels-McQueen, S., McWilliams, D., Zernik, M. and Boime, I.: Human chorionic gonadotropin alpha and beta subunit mRNAs: Translatable levels during pregnancy and molecular cloning of DNA sequences complementary to hCG. In Chorionic Gonadotropin. (ed. S.J. Segal), 253. Plenum Press, New York, 1980.
 15. Boothby, M., Ruddon, R.W., Anderson, C., McWilliams, D. and Boime, I.: A single gonadotropin α -subunits gene in normal tissue and tumor-derived cell lines. J. Biol. Chem., 256: 5121, 1981.
 16. Chough, S.Y.: Study on the systematic use of serial estimation of human placental lactogen (hPL) and human chorionic gonadotropin (hCG) for the management of the trophoblastic neoplasia. Endocrinol. Japon, 20: 9, 1973.
 17. Dawood, M., Saxena, B. and Landesman, R.: Human chorionic gonadotropin and its subunits in hydatidiform mole and choriocarcinomas. Obstet. Gynecol., 50: 172, 1977.
 18. Favera, R.D., Wong-Staal, F. and Gall, R.C.: One gene amplification in promyelocytic leukaemia cell line HL-60 and primary leukaemic cells of the same patient. Nature, 299: 61, 1982.
 19. Fiddes, J.C. and Goodman, H.M.: The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones. J. Mole. Appl. Genet., 1: 3, 1981.
 20. Gaspard, J.U., Hustin, J., Reuter, A.M., Lambotte, R. and Franchimont, P.: Immuno-fluorescent localization of placental lactogen, chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunits in organ cultures of human placenta. Placenta, 1: 135, 1980.
 21. Goldstein, D.P. and Berkowitz, R.S.: Major problems in obstetrics and gynecology, gestational trophoblastic neoplasms, clinical principles of diagnosis and management. W.B. Saunders Co., 11. Philadelphia, 1982.
 22. Hertz, R.: choriocarcinoma and related gestational Trophoblastic tumors in women. Raven Press, 23. New York, 1978.
 23. Hoshina, M., Boothby, M. and Boime, I.: Cytological localization of chorionic gonadotropin α and placental lactogen mRNAs during development of the human placenta. J. Cell Biol., 93: 190, 1982.
 24. Hoshina, M., Hussa, R., Pattillo, R. and Boime, I.: Cytological distribution of chorionic gonadotropin subunit and placental lactogen mRNA in neoplasms derived from human placenta. J. Cell Biol., 97: 1200, 1983.
 25. Hoshina, M., Boothby, R., Hussa, R.D., Pattillo, R.A., Camel, H.M. and Boime, I.: Segregation patterns of polymorphic restriction site of the hCG α gene in trophoblastic disease. Proc.

- Natl. Acad. Sci. U.S.A. (in press). 1984.
26. Hoshina, M., Hussa, R., Pattillo, R., Camel, H. M. and Boime, I. : The role of trophoblast differentiation in the control of the hCG and hPL genes. in Human Malignant Neoplasms., Plenum Press. (in press) 1984.
 27. Jacob, P.A., Wilson, C.M., Sprenkle, J.A., Rosensheny, N.B. and Migeon, B.R. : Mechanism of origin of complete hydatidiform moles. Nature, 286 : 714, 1980.
 28. Kajii, T. and Ohama, K. : Androgenetic origin of hydatidiform mole. Nature, 268 : 633, 1977.
 29. Kan, Y.W., Dozy, A.M., Trecartin, R. and Todd, D. : Identification of a nondeletion defect in α -thalassemia. S. Engl. J. Med., 297 : 1081, 1977.
 30. Maxam, A.M. and Gilbert, W. : Sequencing end-labeled DNA with base-specific chemical cleavages. In Methods in Enzymology. L. Grossman and K. Moldave, editors. Academic Press, New York, 65 : 499, 1979.
 31. Mochizuki, M., Morikawa, H., Kawaguchi, K. and Tojo, S. : Growth hormone, prolactin and chorionic somatomammotropin in normal and molar pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab., 43 : 614, 1976.
 32. Ohama, K., Kajii, T., Okamoto, E., Fukuda, Y., Imazumi, K., Tsukahara, M., Kobayashi, K. and Hagiwara, K. : Dispermic origin of XY hydatidiform moles. Nature, 292 : 551, 1981.
 33. Orkin, S.H., Kazazian, H.H., Antonarakis, S.E., Goff, S.C., Boehm, C.D., Sexton, J.P., Waber, P. G. and Giardina, P.J.V. : Linkage of β -thalassemia mutation and β -globin gene polymorphisms with DNA polymorphisms in human β -globin gene cluster. Nature, 296 : 627, 1982.
 34. Policastro, P., Ovitt, C.E., Hoshina, M., Fukuo-ka, H., Boothby, M.R. and Boime, I. : The beta subunit of human chorionic gonadotropin is encoded by multiple genes. J. Biol. Chem., 10 : 11492, 1983.
 35. Southern, E.M. : Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J. Mol. Biol., 98 : 503, 1975.
 36. Wake, N., Tanaka, K., Chapman, V., Matsui, S. and Sandberg, A.A. : Chromosomes and cellular origin of choriocarcinoma. Cancer Res., 41 : 3137, 1981.
- (No. 5354 昭58・8・10受付)