

335 子宮内膜癌細胞株への正常ヒト単一染色体移入にともなうアクチンおよびアクチン関連蛋白の変化の特徴

九州大生医研, 鳥取大生命工学部門*
三輪勝洋, 宮本新吾, 西田 眞, 佐々木雅弘,
加藤秀則, 押村光雄*, 和氣徳夫

〔目的〕子宮内膜癌細胞株(HHUA, Ishikawa)への正常ヒト1番染色体移入により造腫瘍性と足場非依存性増殖能が抑制され, 著明に平坦な細胞形態を示した。そこで, 本研究は単一染色体移入細胞株におけるアクチンおよびアクチン関連蛋白の変化の特徴を明らかにすることを目的とした。〔方法〕微小核融合法により子宮内膜癌細胞株H H U A (H)およびIshikawa(I)にそれぞれ正常ヒト線維芽細胞由来の1(H#1), 9(H#9), 19(H#19)番および1(I#1), 18(I#18)番染色体を単一移入した細胞についてまず, 細胞特性を調べた。さらに, 細胞免疫染色法にて親株, 単一染色体移入細胞株, 正常子宮内膜細胞(NE)のアクチンストレスファイバー(AF)を観察し, ウェスタン・ブロット法にてアクチン(A), ビンキュリン(V), トロポミオシン(T)蛋白の発現量を検討した。〔成績〕1番染色体移入細胞H#1, I#1は造腫瘍性, 足場非依存性増殖能を消失し, 細胞倍加時間の著明な延長と老化する特性を示した。H#9は造腫瘍性, 足場非依存性増殖能を消失し, I#18は足場非依存性増殖能のみを消失した。H#19の細胞特性は親株と変化なかった。NEで観察されたAFは1番染色体単一移入細胞のみに観察された。H#1, I#1におけるA, V発現量は親株に比較して6-7倍に増加し, H#9, H#19, I#18は2-3倍に増加した。親株とNEとの間ではA, Vの発現量は有意な変化を示さなかった。一方, Tの発現量および発現パターンは親株, NEおよび各細胞クローン間で有意差を認めなかった。〔結論〕正常ヒト1番染色体上には子宮内膜癌抑制とともにAFを調節する遺伝子が存在する。さらに, AF形成には細胞接着に関与するアクチン関連蛋白が重要な役割をはたしていることが示唆された。

336 子宮体癌発生機構の遺伝子解析

九州大生医研, 同遺伝学部門*, 北九州市立医療センター,**大分県立病院,**九州がんセンター****
今村利朗, 有馬隆博, 森 敏尚**, 谷口一郎***,
自見昭司****, 笹月健彦*, 和氣徳夫

〔目的〕子宮体癌発生過程には複数の癌遺伝子, 癌抑制遺伝子の関与が示唆されている。しかし癌抑制遺伝子の欠失の頻度や詳細な遺伝子座に関しては未だ解明されていない。このため今回制限酵素断片長多型(RFLP)解析により, ヘテロ接合性の消失している染色体領域およびその頻度について検討した。またras系癌遺伝子, Int-2癌遺伝子に関して発癌過程への関与を検討した。〔方法〕子宮体癌手術症例42例について癌組織および正常組織を採取してそれぞれ高分子量DNAを抽出し, 第1染色体から第22染色体に遺伝子座を有するRFLPプローブを用いてヘテロ接合性の消失の検討を行った。またK-ras遺伝子, Ha-ras遺伝子, N-ras遺伝子のコドン12, 13, 61を含む領域をpolymerase chain reaction (PCR)を用いて増幅しオリゴヌクレオチドプローブによるドットハイブリダイゼーションを行い点突然変異の有無を検討した。Int-2遺伝子増幅はサザンハイブリダイゼーションにより検討した。〔成績〕(1)第17染色体短腕(17p13), 第18染色体長腕(18q21)において高頻度のヘテロ接合性の消失が観察され, p53遺伝子, DCC遺伝子の関与が示唆された。(2)若年発癌の2症例では対立遺伝子欠損の頻度(allelic loss frequency)は90%に達しており, 特異な発癌機構を有することが示唆された。(3)K-ras遺伝子の点突然変異が17%の症例で観察された。Int-2遺伝子の増幅は認められなかった。〔結論〕子宮体癌発生過程にはp53遺伝子, DCC遺伝子, K-ras遺伝子の少なくとも3遺伝子変化の関与が示された。また, 子宮内膜発癌には複数の癌化機構が関与することが示唆された。