

15 CGH(Comparative Genomic Hybridization)法を用いた子宮頸部発癌過程の遺伝学的検討

杏雲堂病、癌研・細胞生物*、オリンパス**
坂本 優、坂本宙子**、末広 寛、馬屋原健司、
秋谷 司、岩渕浩之、作永穂高、室谷哲弥、
河口徳一*、野田哲生*、杉下 匡、天神美夫

〔目的〕 子宮頸部癌化過程における遺伝学的変化を解明するため、癌化過程の各段階に相当する細胞株ならびに臨床検体に対してCGH分析を施行した。

〔方法〕 正常子宮頸部2例、異形成3例、上皮内癌2例、浸潤癌6例より樹立した13種の細胞株ならびに3例の臨床検体（浸潤癌）計16例より抽出したDNAに対してCGH分析を行った。（成績）正常子宮頸部由来株は2株ともに遺伝子コピー数の異常を示さなかった。子宮頸部の軽度異形成株では染色体7番長腕のコピー数の減少（以下7q-と略す）、8番コピー数の増加（以下8q+と略す）、13q-、20q+、中等度異形成では1p+、8q+、高度異形成では3p-、4q-、11p-、16q-、18p+、18q-、19q+等が認められた。上皮内癌株では17p+、19q+を有する例と3q+、22q-、Xq-を有する例が認められた。浸潤癌では5p+(6/9例)、5q+(6/9)、8q+(6/9)、16q-(6/9)、19q+(6/9)、4q-(5/9)、11p-(5/9)、20q+(5/9)、3p-(4/9)、18q-(4/9)、11q+(3/9)、17q+(3/9)が高頻度に認められ、浸潤癌由来株と臨床の浸潤癌の遺伝学的変化は極めて類似していた。（結論）子宮頸部浸潤癌において既知の遺伝学的変化(3p-、11p-、8q+)以外の高頻度の変化として5p+、5q+、16q-、19q+、4q-、20q+、18q-、11q+、17q+が見い出された。高度異形成では、軽度や中等度異形成とは異なり、癌に類似した遺伝学的変化を示した。特に19q+は高度異形成および上皮内癌にも認められ、子宮頸部の発癌に関わる重要な遺伝学的変化であると考えられた。また5p+、5q+、11q+は上皮内癌以前にはなく、浸潤癌のみに高頻度に認められ、浸潤に関わる遺伝学的変化であると考えられた。

16 Cdkインヒビター-p21^{WAF1}を用いた遺伝子治療に関する基礎的検討

岐阜大
横山康宏、森下重雄、高橋雄一郎、玉舎輝彦

〔目的〕 細胞周期はサイクリン、サイクリンキナーゼを中心とする種々の蛋白質の磷酸化カスケードによって調整されているが、近年これをnegative controlする蛋白質（Cdkインヒビター）が発見された。これらの蛋白質は癌細胞では一般に発現が極めて弱いか、欠如していると報告されている。我々はサイクリンキナーゼとPCNAの両者に作用し機能を抑制するp21^{WAF1}の遺伝子治療への可能性を検討すべく、子宮頸癌と卵巣癌を用いて、その遺伝子移入による細胞増殖抑制効果を検討した。

〔方法〕 1)胎盤組織よりRT-PCRによって全open reading frameを含む Full lengthのp21^{WAF1} cDNAを作製しTA-cloning vector pCRIIに組み込み、sequence reactionにて野生型p21^{WAF1}を確認した。次いでp21^{WAF1} cDNAをXhoI linkerを用いてInducible eucaryotic expression vector pMAMneoにsubcloningした。2)卵巣癌培養細胞2780,子宮頸癌培養細胞HelaにLipofection法にて遺伝子を導入,2780は600mg/ml,Hela細胞は4mg/mlのG418で耐性クローンを選択し、個々のクローンをWestern blotting ないしはNorthern blottingで選別し発現クローンを得た。3) 発現クローンについて細胞増殖を比較し、p21^{WAF1}の細胞増殖抑制効果を検討した。〔成績〕 1.2780, Hela細胞ともに蛋白質レベルでのp21^{WAF1}強発現株を得た。2. 両細胞ともにp21^{WAF1}発現度と細胞増殖抑制度は比例した。3.p21^{WAF1}の細胞増殖抑制度は2780により効果的であった。〔結論〕 P21^{WAF1}遺伝子による細胞増殖抑制効果はFunctional Rb蛋白質を有する卵巣癌に対してより有効と考えられた。