179 卵巣奇形腫の単為発生時期の同定と クロナリティー解析

東京大、三菱化学生命研*

飯田 卓、堤 治、藤本晃久*、高井 泰、
武谷雄二

[目的]卵巣奇形腫は単為発生が原因であるとされるが、その発症機序はほとんど解明されていない。今回、分子遺伝学的方法により同腫瘍の発生時期を解析した。またX染色体上の遺伝子のメチル化を調べ、本腫瘍におけるクロナリティー解析を実施し、X染色体の不活性化の有無を検討した。

[方法]同意を得た卵巣奇形腫の患者10家系を対象とし、摘出腫瘍および患者とその両親のリンパ球より抽出したDNAを解析に用いた。X染色体上の5ヶ所、21番染色体上の2ヶ所のCAリピート多型によりalleleの親由来を検討した。X染色体上の不活性化の解析にはFMR-1遺伝子のメチル化をサザン法により解析した。クロナリティー解析にはHUMARA遺伝子上流のメチル化部位認識制限酵素HpaIIによるDNA消化後に同部位のPCRを試み、allele由来のPCR産物の電気泳動により行った。[成績]腫瘍のalleleの組み合わせは父由来のみのホモ3家系、母のみ2家系、両親由来のヘテロ5家系それぞれがみられた。すなわち半数が第1、半数が第2減数分裂時の異常であると考えられた。サザン法の結果では50%のDNAが不活性化を示していた。HUMARA遺伝子の解析では父性母性由来を問わず、2つのalleleのうち一方のみがメチル化されていた。これはmonoclonalであるが父母由来には偏りがなくメチル化がおこなわれていた。[結論]卵巣奇形腫の単為発生の時期は単一ではなく、第1、2それぞれの減数分裂の異常で起こることが示された。受精を経ない単為発生である本腫瘍でもX染色体の不活性化が起こることが明らかになった。その不活性化はnon-randomであるが、父方母方による特異性はみられなかった。

180 卵巣癌細胞におけるhCGのアポトーシス抑制効果のin vitro解析

京都大

黒田英樹、小西郁生、万代昌紀、小松孝之、
山本紳一、南部香成子、松下克子、森 崇英

[目的]卵巣癌のLH/hCG受容体発現や不妊治療中の卵巣癌発生の報告などから、ゴナドトロピンが卵巣癌の発生・進展に影響を及ぼす可能性が示唆されている。今回、卵巣癌細胞に対するLH/hCGの生物学的作用を検討する目的で、卵巣癌細胞株を用い、hCGが、その細胞増殖およびアポトーシスに与える効果を解析した。

[方法]2種類の卵巣癌由来細胞株(OVCAR-3, SK-OV3)においてhCGの細胞増殖活性に与える影響をBrdU assayにより検討した。またこれらの細胞のcisplatin-induced apoptosisに及ぼすhCGの効果をTUNEL法とDNA ladder法により検討した。さらに、卵巣癌細胞のLH/hCG受容体mRNA発現をRT-PCR法により検討した。

[成績]hCG添加による細胞増殖活性の変化はいずれの細胞にも認められなかった。Cisplatin添加によるapoptosisはいずれの細胞でも同様に観察されたが、OVCAR-3細胞においては、hCG添加の前処置によって、cisplatinによるapoptosisを約40%抑制した。一方、SK-OV3細胞ではhCGのapoptosis抑制は観察されなかった。LH/hCG receptor mRNA発現はOVCAR-3細胞には陽性であったが、SK-OV3細胞には認められず、hCGのapoptosis抑制はLH/hCG受容体を介する効果と考えられた。

[結論]LH/hCG受容体を発現している卵巣癌細胞において、hCGのアポトーシス抑制効果が確認された。これは、ゴナドトロピンが卵巣癌細胞のbiological behaviorに影響を及ぼす機序の1つと考えられる。