

## 70 家族性上皮性卵巣癌症例の LOH 法を用いた遺伝子変化の解析

新潟大<sup>1</sup>, 名古屋第二赤十字病院<sup>2</sup>, 慈恵医大<sup>3</sup>, 鹿児島市立病院<sup>4</sup>, 癌研究会附属病院<sup>5</sup>, 国立呉中国がんセンター<sup>6</sup>, 北海道大<sup>7</sup>, 近畿大<sup>8</sup>, 鹿児島大<sup>9</sup>, 神戸大<sup>10</sup>  
加嶋克則<sup>1</sup>, 小林 巖<sup>2</sup>, 田中忠夫<sup>3</sup>, 波多江正紀<sup>4</sup>, 平井康夫<sup>5</sup>, 藤井恒夫<sup>6</sup>, 藤本征一郎<sup>7</sup>, 星合 昊<sup>8</sup>, 吉永光裕<sup>9</sup>, 丸尾 猛<sup>10</sup>, 永田 寛<sup>1</sup>, 田中憲一<sup>1</sup>

【目的】BRCA1遺伝子に突然変異を認めない家族性上皮性卵巣癌症例に共通する遺伝学的異常を検出すること。【方法】第3度近親者内に上皮性卵巣癌患者を2名以上伴い、BRCA1遺伝子に突然変異を認めない19家系39症例を対象とした。同意を得て、患者血液から抽出した正常DNA、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから抽出した腫瘍DNAを用い、約20cM間隔に設定した全染色体上の159マイクロサテライトマーカーにおける Loss of heterozygosity (LOH) 解析を行った。【成績】159マーカーの中で68マーカー(42.8%)において30%以上のLOHを認め、全染色体の中で2q,4q,5p,5q,6q,7p,8p,9q,12q,13q,15q,17p,17q領域において30%以上のLOHを認めるマーカーが高頻度に存在した。特に6q,7p,13q,17p,17q領域では検索した全てのマーカーにおいて30%以上のLOHを認めたが、これらの領域は昨年報告したように Comparative Genomic Hybridization 法においても高頻度に欠失を認める領域であった。また、50%以上のLOHをD7S481(10/18:55.6%), D9S154(13/25:52.0%), D17S796(13/25:52.0%), D17S799(10/20:50.0%)で認めた。【結論】本研究において高頻度にLOHを認めた領域、特にD7S481,D9S154,D17S796,D17S799領域において家族性上皮性卵巣癌症例の発症に関与する遺伝子の存在が示唆された。

## 71 ヒト正常卵巣上皮細胞および上皮性卵巣癌細胞における activin receptor の発現とその Smad によるシグナル伝達機構について

群馬大

伊藤郁朗, 篠崎博光, 安部和子, 平川隆史, 峯岸 敬

【目的】activin が、卵巣癌の発生やその増殖に関与しているとの報告がある。正常卵巣上皮細胞、上皮性卵巣癌由来細胞株における activin receptor (AcR) の発現および、そのシグナル伝達に関与する Smad の発現と activin 添加による変化を検討した。【方法】患者の同意のもと手術時に採取した正常卵巣上皮細胞および、上皮性卵巣癌細胞株(OVCAR3,SKOV3)について、AcR の発現を RT-PCR 法で mRNA を、C 末端を認識する抗体を用いた Western Blot 法で蛋白発現を検討した。さらに OVCAR3 で、Smad2,4 の mRNA 発現及び、activin 50ng/ml 添加における経時的変化を cRNA probe を用いた Northern Blot 法で検討した。【成績】3種類のいずれの細胞にも、AcRIa,IIa,IIb の mRNA の発現を認めた。また、AcRIIa,IIb の蛋白発現を認めた。そのサイズは、IIa80kD,IIb50kD であったが、OVCAR3 の IIb は60kD と他の細胞と相違があった。OVCAR3 において、Smad2mRNA は、4.5Kb と2.9Kb に、Smad4mRNA は、4.2Kb に発現していた。activin 添加により、Smad4mRNA は変化しなかったが、Smad2mRNA は、徐々に増加し、72時間後に control の約2.5倍となった。【結論】正常卵巣上皮細胞、上皮性卵巣癌細胞株ともに AcR を発現していた。OVCAR3 において、Smad2 の mRNA の発現が activin 添加で増加したことより、上皮性卵巣癌においても activin のシグナル伝達機構は存在し、その細胞増殖などに関与する可能性が示唆された。

## 72 卵巣癌における染色体不安定性と細胞周期チェックポイント遺伝子の異常

東京医大

田中都生, 小杉好紀, 中村 浩, 井坂恵一, 高山雅臣

【目的】近年、発癌機構におけるゲノム不安定性の重要性が指摘されている。一般に癌細胞は染色体異常を起こしている CIN (Chromosomal instability) 株と正常な2倍体であるがDNA修復異常に由来するマイクロサテライトの不安定性を起こしている MIN (Microsatellite instability) 株に分類される。頭頸部癌や乳癌では末期において p53 の変異と染色体異数性が顕著化することが報告されている。そこで今回我々は、卵巣癌における染色体不安定性の有無を分子細胞遺伝学的手法を用いて検討した。【方法】卵巣癌細胞株14株の全ゲノムを CGH (Comparative Genomic Hybridization) 法により比較した。Genomic Imbalance の頻度の最も高い細胞株5株と最も低い細胞株5株を選別し、限界希釈法にて単一細胞化した後、継代を続けて FISH (Fluorescence in situ hybridization) 法にて染色体数の経時的変化を観察した。【成績】単一細胞から25回継代する過程で、1染色体あたり1%以上の高い割合で染色体の増幅や欠失が発生する細胞株2株を認めた。この2つの細胞株では微小管破壊薬剤であるコルセミド処理を行っても M 期で停止せず、p53 などの細胞周期チェックポイント遺伝子に異常があることが確認された。【結論】卵巣癌の一部に細胞周期チェックポイント遺伝子の異常による染色体不安定性を示すものが含まれることが明らかになった。これは抗癌剤として用いられる微小管破壊薬剤が無効な卵巣癌症例の病態を説明するものと考えられる。