

P-652 絨毛癌の癌化抑制および絨毛分化に関わる新規候補遺伝子 NECC1の解析

九州大生医研

浅野間和夫, 松田貴雄, 近藤晴彦, 加藤秀則, 和氣徳夫

【目的】我々は絨毛癌細胞株に導入すると形態変化を来す新規遺伝子 NECC1を同定した. この形態変化と NECC1の構造との関連, そして形態変化の意義について検討した. 【方法】(1)NECC1の構造のうち絨毛癌細胞の形態変化に関与する領域を同定するため NECC1を構成する 4つの Helix のうち Helix1/2を欠失させた cDNA (Δ H1/2)と Helix3/4を欠失させた cDNA (Δ H3/4)を作製した. これらを絨毛癌細胞株 CC1と Bewo に遺伝子導入し, その形態の検討と抗 hPL (human placental lactogen) 抗体による蛍光免疫染色を行った. (2)実際の絨毛組織での NECC1の発現を解析するため患者のインフォームド・コンセントを得た後, 流産検体から絨毛組織を採取し, NECC1の RNA プロローブを用いて In situ hybridization を行った. 【成績】(1) NECC1を導入した細胞株は全長の cDNA だけでなく Δ H1/2, Δ H3/4ともに細胞は平坦化し, 胞体は巨大化して N/C 比が下がり, 多核の細胞が著明に増加した. 形態変化を起こした細胞は分化マーカーとしての hPL の発現が増加していた. (2) In situ hybridization の結果, NECC1の発現は syncytiotrophoblast に有為に認め, 間質細胞や cytotrophoblast にはほとんど発現を認めなかった. 【結論】NECC1は cytotrophoblast から syncytiotrophoblast への分化機構と絨毛癌化抑制に関与することが示された. NECC1の導入により絨毛癌細胞株の形態変化を認めたが, これは NECC1の部位特異性を伴っていなかったことから Helix 構造を持つ他の転写因子をアンチセンス効果や, ドミナント・ネガティブ効果等を介して競合することにより絨毛分化に関与する遺伝子の発現を調節している可能性が示唆された.

P-653 HTF12スプライシング変異遺伝子の絨毛癌細胞増殖抑制効果の検討

九州大生医研

松田貴雄, 浅野間和夫, 近藤晴彦, 加藤秀則, 和氣徳夫

【目的】7q11.21領域に存在する HTF12遺伝子は絨毛癌細胞株に導入するとその増殖を抑制する. この遺伝子はクルッペル関連ボックスと Zn フィンガードメインを有する ZNF 遺伝子ファミリーに属する. 選択的スプライシングによって3つのサイズの mRNA が存在するが, 正常絨毛細胞で発現している mRNA (HTF12-1)と癌細胞に導入して効果のある mRNA (HTF12-2)が異なるため, この3つの mRNA の作用の相違について検討した. 【方法】5RACE 法を用いて3種類の異なる遺伝子の上流領域のフラグメントを得てこれをプロローブにして cDNA ライブラリーよりスプライシング変異 (HTF12-1, 2, 3)を得た. これらをそれぞれ絨毛癌細胞株 CC1に導入してその増殖に対する効果を検討した. 得られたプロモーター領域の配列を転写因子データベースで検索を行った. 【成績】1)HTF12-1, 2, 3は導入によっていずれも絨毛癌増殖抑制効果が認められた. 2)HTF12-1, 2, 3のプロモーターはそれぞれ配列が異なった. 3)CC1細胞に分化を誘導するフォルスコリンを添加すると同様の細胞形態の変化が認められるが, HTF12-2の発現は認められなかった. 【結論】HTF12-2は絨毛の合体化を促進するフォルスコリンによって発現が増加するが, その作用とは異なる作用で絨毛癌細胞の増殖を抑制する事が示唆された. 選択的スプライシングで Zn フィンガードメインの数が異なるが, 絨毛癌細胞の増殖抑制には関係しないと考えられた.

P-654 子宮平滑筋肉腫に対する低電圧 in vivo electroporation 法を応用したカルボニン h1遺伝子治療法の開発信州大臓器発生制御¹, 信州大²二階堂敏雄¹, 堀内晶子², 王 翠菊², 大平哲史², 小西郁生²

【目的】目的】子宮平滑筋肉腫は予後不良の腫瘍であり, 新しい治療法の開発が望まれる. 我々は, 子宮平滑筋肉腫に細胞骨格蛋白カルボニン h1の発現低下があり, カルボニン h1遺伝子導入が肉腫細胞株の造腫瘍能を抑制することを示した. 今回, 子宮平滑筋肉腫に対するカルボニン h1を用いた遺伝子治療法の開発を目的として, 低電圧 in vivo electroporation (EP)法を応用した検討を行った. 【方法】1)遺伝子導入には green fluorescent protein (GFP)を発現する control vector, これにヒトカルボニン h1cDNA を組み込んだ vector を用いた. 子宮平滑筋肉腫細胞株 SK-LMS-1をヌードマウス (BALB/c)に皮下移植し腫瘍体積が100 mm³になった時点で, PBS 局注+EP(-)群, PBS 局注+EP(+)群, control vector 局注+EP(+)群, カルボニン h1局注+EP(-)群, カルボニン h1局注+EP(+)群の5群で実験を行い, EP 群で電流, 電圧を測定した. 2)in vivo EP 法で遺伝子導入した腫瘍を48時間後に採取し, 蛍光顕微鏡で GFP 発現を観察した. 3)5群間で腫瘍体積を比較した. 【成績】1)EP(+)の各群で電流, 電圧に有意差はなかった. 2)EP(+)の2群で GFP 発現が確認された. 3)腫瘍体積では, PBS+EP(+)群, control vector+EP(+)群, カルボニン h1+EP(-)群は対照との間に有意差は認められなかったが, カルボニン h1+EP(+)群では14日目から腫瘍増大が有意に抑制された (p<0.01). 【結論】低電圧 in vivo EP 法は遺伝子導入法として有効であり, これを応用したカルボニン h1遺伝子治療は, 子宮平滑筋肉腫の新しい治療法として発展する可能性がある.