

14. Differential Display (DD) 法による胃腺腫、胃癌の遺伝子発現様式の相違

(内科学第四講座)

大野博之, 工藤 拓, 坂井康明, 梅沢裕信,
谷 穰, 三治哲哉, 半田 豊, 森田重文,
鶴井光治, 三坂亮一, 川口 実, 齊藤利彦

【目的】 癌においては多段階的に遺伝子異常が蓄積し, その発生過程に関与していると考えられている。胃癌においても, 慢性胃炎や数種の前癌病変よりの発生経路が示唆されており, その解明が望まれている。今回, 胃腺腫および胃癌を対象とし, その発生への関与, あるいは, 腫瘍病変の相違について, 多数の発現量の異なる遺伝子を検索しうる有用なツールである Differential display (DD) 法により m-RNA の発現量の差異を検索しその関連につき検討を試みた。

【対象と方法】 腺腫 11 例, 胃癌 (早期癌, 高分化型腺癌) 12 例および, 正常粘膜 10 例を対象とした。それぞれ total RNA を抽出し, c-DNA に逆転写後 2 種のアンカープライマーと 6 種の任意プライマーにより増幅し, DD 法により, 多数の発現遺伝子を各々比較した。DD 解析は, スクリーニング目的に蛍光式自動シーケンサーで行った。1 種の任意 primer にて 20-30 種の発現が確認可能であった。発現量の異なるバンドを確認後, 再度通常の電気泳動を施行し, 銀染色後目的バンドをクローニングし, 塩基配列を決定した。

【結果】 腺腫, 癌で各々共通に発現, 消失し, 更に腺腫, 癌での発現差を認めた遺伝子を検出し得た。正常粘膜に対し腺腫, 癌での過剰発現は 6, 6 個, 消失は, 1, 2 個認め, 腺腫は癌と類似する発現様式を示した。塩基配列決定後ホモロジーを検索したところ, 多くは cytochrome C や ribosomal protein などエネルギー代謝に関与する遺伝子であったが, 機能未知の遺伝子やトランスフォーメーションに関与すると考えられる遺伝子も認められた。

本研究は東京医大がんセンター研究助成金の補助により行った。

※ 15. CIS1 による BCR-ABL 癌遺伝子の腫瘍形成能の制御

(内科学第一)

田内哲三, 大屋敷一馬

【目的】 CIS1 は IL-2, IL-3, GM-CSF, EPO によって造血細胞における発現が誘導される細胞内情報伝達分子で, Jak-Stat シグナル伝達系に対し抑制的に働くことが報告されている。我々は p210 BCR-ABL 及び CIS1 を発現させた NSF/N1.H7 細胞株及び Rat-1 細胞株を用いて, CIS1 の BCR-ABL における腫瘍形成能の制御について検討した。

【結果・考案】 1) BCR-ABL 導入細胞では IL-3 非存在下においても CIS1 は恒常的に発現しており CIS1 の発現量は BCR-ABL tyrosine kinase に相関する。2) GST-CIS1 融合蛋白を用いた in vitro binding assay により CIS1 と BCR-ABL の複合体形成には CIS1 の SH2 ドメインを介している。3) CIS1 の 47KD の isoform は 32KD CIS1 の Ubiquitin 化したものである。4) BCR-ABL の half life は 60 min であるが, CIS1 を過剰発現させた細胞株では BCR-ABL 融合蛋白の degradation は促進していた。5) Rat-1 細胞を用いての transformation assay により CIS1 過剰発現細胞では BCR-ABL の腫瘍形成能は有意に低下していた。以上のことより, BCR-ABL 導入細胞における CIS1 の恒常的な発現が BCR-ABL 融合蛋白の分解を促進し, 負のフィードバックとして機能していることが示唆された。