OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	SV40で株化したWerner症候群線維芽細胞の自然突然変異率に関する研究
Author(s)	福地, 研一郎
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34934
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【51】

氏名・（本籍）	福地（ふくち） 研一郎（けんいちろう）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7044 号
学位授与の日付	昭和 60 年 12 月 2 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	SV40で株化したWerner症候群線維芽細胞の自然突然変異率に関する研究
論文審査委員	（主査）教授 熊原 雄一 （副査）教授 近藤 宗平　教授 岡田 善雄

論文内容の要旨

（目　的）

Werner症候群（WS)は，稀な常染色体劣性遺伝性疾患で，白髪，白内障，低身長，動脈硬化，糖尿病，高腫瘍発生等を示し，代表的な早老症の一つである。WS患者由来の皮膚線維芽細胞は，自然染色体異常の頻度が高く，DNA複製の異常を示す。一方，原核生物および嚙歯類動物細胞においては，DNA 合成の異常を示すものは，自然突然変異率の高いいわゆる“mutator”であることが知られており，自然染色体異常，DNA複製の異常を示すBloom症候群においても，自然突然変異率が高いことが示されている。これらの事実より，WSの自然突然変異率を決定し，mutatorであるか否かを明らかにすることを目的とした。

（方法ならびに成績）

細胞株

WS細胞は，分裂増殖能が著しく短縮しているため，これを用いて突然変異率を決定する事は，きわめて困難である。このため，SV40で株化したWS患者由来細胞PSV 811 およびW—Vを用いた。対照として同様に，SV40で株化した正常者由来細胞WI38VA13およびAG 2804 Bを用いた。

Fluctuation analysis

自然突然変異率は，プリンアナログである6チオグアニン耐性（6 SGr)に関し，Luria−Delbruck の Fluctuation analysisにより決定した。6 SGr細胞は，X染色体にあるヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRT）遺伝子の突然変異細胞と考えられている。前記の4つの細胞株それぞれに関し，20〜25のサンプルについて，1個の細胞より始め6〜7 $\times 10^6$まで増やした後，

10 μg／mℓの6チオグアニンを含む培地にて，6 SGr細胞のコロニーを検出し，突然変異率を決定した。

Southernブロッティング

SV40にて株化された細胞は，染色体およびその数に変化をきたしているため，上記4つの細胞株に関し，ヒトのHGPRT遺伝子のcDNAをプローブとして，Southernブロッティングをおこない，HGPRT遺伝子のコピー数を調べた。

成　績

正常細胞の自然突然変異率は，1細胞，1世代当り，WI38が 0.39×10^{-8}，AG 2804 Bは，6 SGrコロニーが検出されず正確に計算できないが，1個検出されたと仮定すれば，0.47×10^{-8}であった。WS細胞のそれは，W−Vが 7.0×10^{-8}，PSV 811 が 13.2×10^{-8}であった。Cloning efficiencyを考慮すると，WI38が 2.9×10^{-8}，AG 2804 Bが，同様の仮定の基に，1.8×10^{-8}，W−Vが 76.2×10^{-8}であった。Southernブロッティングの結果，AG 2804 BとPSV 811 は，等しいコピー数であると考えられた。これに対し，W−Vは，前2者の約½のコピー数で，これは，前2者が女性（2×）であるのに対し，W−Vが男性（1×）由来であるためと考えられた。WI38は，PSV 811 やAG 2804 Bよりコピー数が増加していると考えられた。

（総　括）

WS細胞の自然突然変異率は，正常に比し約15〜25倍高くなっていた。この傾向はHGPRT遺伝子のコピー数を考慮しても変化しなかった。以上の結果は，WSが自然突然変異率の高いmutatorである事を示唆している。

論文の審査結果の要旨

代表的遺伝的早老症であるWerner症候群（WS）由来細胞は，DNA複製の異常を示す。この事実よりSV40で株化されているWS由来細胞に関し，フラクチュエイションテストにより，自然突然変異率を調べた。この結果ヒポキサンチン，グアニン，ホスホリボシルトランスフェレース座に関し，WS由来細胞の自然突然変異率が，正常対照細胞に比し，約20倍高い事が明らかとなった。

この研究は，WSがミューテーターミュータントである可能性を示すとともに，体細胞突然変異のWS老化症状および老化に対する影響の可能性を示した点で有意義である。