The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	温度依存性変異細胞株を用いた癌形質発現機構の解析
Author(s)	木境, 科江
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36044
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

【24】

氏名・(本籍)	木境科江（きざかしなえ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8594 号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**温度依存性変異細胞株を用いた癌形質発現機構の解析**
論文審査委員	(主査) 教授 羽倉 明 (副査) 教授 加藤 四郎　教授 高橋 理明

論文内容の要旨

〔目的〕

正常細胞が，形態変化や無秩序な増殖等の特徴的な形質を示す癌細胞に変化する過程には，様々な細胞側因子が関与していると思われる。現在までに，癌形質を誘導しうる癌遺伝子が数多く発見され，その構造や機能の解析が進められているが，癌形質の発現機構は未だ明らかではない。本研究の目的は，癌遺伝子による癌形質発現が，可逆的に抑制される温度依存性変異株を用いて，癌形質発現に関与する細胞側因子を解析することによって，癌形質の発現機構を解明することにある。

〔方法ならびに成績〕

1. われわれの研究室で分離したFisher rat 線維芽細胞由来の温度依存性変異株B812は，種々のレトロウイルス感染後，非許容温度（39℃）培養下でのフォーカス形成率が許容温度（35℃）培養下に比べ，約1／10から1／100に減少するという性質を示した。この非許容温度での癌形質発現に対する抑制は可逆的で，感染後に非許容温度で培養した細胞を許容温度に移して培養するとフォーカスの数は許容温度での培養期間に平行して増加し，その逆では，フォーカスの数は減少した。

2. B812細胞にK-ras癌遺伝子をもつレトロウイルス，Kirstein 肉腫ウイルスを感染させ形成したフォーカスを分離・株化して，代表株6株につき性状解析を行ない，以下の結果を得た。

(1) 形態や軟寒天培地でのコロニー形成能等の癌形質を調べたところ，6株とも39℃では正常形質を示し，35℃では癌形質を示した。

(2) Northern Blot法やWestern Blot法を用いて，6株の細胞内でのK-ras癌遺伝子の発現を調べたところ，v-K-ras 転写産物量および$p21^{K\text{-}ras}$ 蛋白量は，ともに温度非依存性であった。

(3) 非許容温度で培養した6株の細胞から回収されるウイルスの癌形質誘導能を調べたところ，野生型ウイルスの癌形質誘導能と差異の無いことがわかった。

3. 上記の細胞株に，他の癌遺伝子をウイルスの重感染やDNAトランスフェクション法で導入して，39℃における形質変化を軟寒天培地でのコロニー形成能で調べたところ，ras，mos，src，fos及びerbB－2癌遺伝子の導入によっては，癌形質誘導は起こらず，正常細胞形質のままであったが，ポリオーマウイルスのmiddle T遺伝子やアデノウイルスの導入によっては，癌形質が誘導された。

〔総括〕

1. 温度依存性変異株B812は，種々のレトロウイルスによる癌形質誘導に対して，温度依存性の癌形質発現を示し，非許容温度下での癌形質発現抑制は可逆的であった。

2. B812細胞内でのK-ras癌遺伝子の発現や癌形質誘導能は，温度非依存性であった。従って，B812細胞のもつ温度依存性の癌形質発現は，癌遺伝子の癌形質発現過程に関与している細胞側因子の変異によるものであることを示唆している。

3. B812細胞のもつ変異細胞因子は，ras，mos，src，fos，erbB－2等の複数の癌遺伝子の癌形質発現に関与しているものと予想される。

論文の審査結果の要旨

癌化機構を理解するうえで，細胞レベルの癌形質発現に関する研究は重要である。現在までに，数多くの癌遺伝子が明らかにされ，その産物についての研究は著しく進展している。しかし，同産物が機能する細胞側因子についての研究はほとんどなされていない。本研究は，ウイルス性癌遺伝子によるtransformationに温度感受性を示すラット由来の変異細胞（B812）を用いて，同細胞の変異遺伝子機能につき，特にv-rasを中心に詳細な検討を行った。その結果，B812遺伝子がv-rasをはじめ，v-mos，v-src，v-fosなど調べた全ての細胞由来の癌遺伝子による癌化に関与する遺伝子であること，また，同遺伝子はDNA型腫瘍ウイルスの持つ癌遺伝子による癌化には無関係であることを明らかにした。本研究は細胞由来の癌遺伝子とDNA型腫瘍ウイルスの持つ癌遺伝子とで，その癌化機構に差異があることを明らかにしたものであり，高く評価される研究である。