



Title	Hamster cell line suitable for transfection assay of transforming genes
Author(s)	東, 孝次
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37475">https://hdl.handle.net/11094/37475</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名・（本籍）	ひがし 東	たか 孝	つぐ 次
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 4 2 1	号
学位授与の日付	平成 2 年	12 月	4 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	Hamster cell line suitable for transfection assay of transforming genes (癌遺伝子検索に適したハムスター細胞株の樹立)		
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞	(副査) 教授 豊島久真男 教授 高井新一郎	

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

DNAトランスフェクション法を用いて、腫瘍DNAより多くの癌遺伝子が検出されてきたが、その受容細胞としてはNIH3T3細胞が専ら用いられてきた。しかしながらNIH3T3細胞では検出できない活性型癌遺伝子も多くあると考えられ、また発癌実験動物モデルに最も多く用いられるマウスの遺伝子が、マウス由来のNIH3T3細胞に導入された場合検出しにくいという問題があった。この研究の目的は、NIH3T3細胞を用いては検出できない癌遺伝子を検出し得る、マウス由来以外の受容細胞の樹立である。

### 〔方 法〕

鈴木が樹立したハムスター胎児細胞GHE-1よりサブクローニングを行い、活性型 c-Ha-ras に よる形質転換効率のよいクローンSHOK細胞を選び、NIH3T3とともに受容細胞として用いた。DNAの形質転換活性は、リン酸カルシウム沈澱法によってDNAをトランスフェクトされた受容細胞のフォーカス形成を指標とした。

SHOK細胞とNIH3T3細胞の種々の癌遺伝子に対する形質転換感受性を、他施設より供与されたクローン化癌遺伝子、および活性型癌遺伝子を含む腫瘍細胞のDNAをトランスフェクトすることによって比較した。

10種のヒト腫瘍細胞、12種のヒト腫瘍組織、および5種のマウス腫瘍組織のDNAについて、NIH3T3およびSHOK細胞を受容細胞として形質転換活性を調べ、フォーカスより得られた形質転換細胞について原因癌遺伝子を同定した。また、形質転換活性がNIH3T3細胞では検出不能で、SHOK細胞

のみで検出された癌遺伝子の分離を試みた。

#### 〔成績〕

SHOK細胞は扱いやすく、DNAトランスフェクションの効率が高く、種々の癌遺伝子によって効率よく形質転換し、形質転換細胞と正常細胞の区別が容易であり、自然発生的な形質転換頻度が低い等、癌遺伝子検索細胞として適した性格を有していた。

SHOK細胞の形質転換効率は、NIH3T3細胞に比較して、v-raf, v-Ha-ras, v-Ki-ras および活性型細胞性 ras については同程度であり、v-mos については高く、v-fps, v-fgr, v-src, v-sis, および v-abl については低かった。

形質転換活性を調べた27種類の腫瘍由来のDNAのなかで、5種類がNIH3T3細胞を受容細胞とすると陽性であり、9種類がSHOK細胞で陽性であった。そして、多くの形質転換原因遺伝子は、従来の報告にみられるようにras遺伝子であった。

NIH3T3細胞では陰性で、SHOK細胞のみで陽性であった腫瘍DNAについて形質転換原因遺伝子を検索したところ、ヒト甲状腺癌細胞TCO-4のDNAからは未報告の癌遺伝子が分離された。そして、造腫瘍性ヒト線維芽細胞株HuT-14のDNAからは、未報告の146番目コドンの点突然変異により活性化されたc-Ki-ras 2遺伝子が分離された。

また、SHOK細胞においては、種特異的反復配列の利用によって、導入されたマウス由来遺伝子の検出が容易であった。

#### 〔総括〕

ハムスター胎児由来細胞SHOKは、トランスフェクション法を用いた癌遺伝子検索の受容細胞としての種々の条件を満たし、癌遺伝子による形質転換に対して、従来専ら用いられてきたマウスNIH3T3細胞とは違った感受性を示した。そして、SHOK細胞を用いることによって、NIH3T3細胞では検出できなかった癌遺伝子が腫瘍DNAより実際に検出され、またマウス由来遺伝子の検出が容易となった。以上の結果から、SHOK細胞の癌遺伝子検索細胞としての有用性が明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

NIH3T3細胞を受容細胞としたトランスフェクション法により、腫瘍DNAより多くの癌遺伝子が検出されてきたが、この受容細胞では検出できない活性型癌遺伝子も多く存在すると考えられ、新しい他の受容細胞の樹立が強く望まれている。本研究ではこの目的に沿って行われたもので、新たに樹立されたSHOK細胞は、既知の癌遺伝子によって効率よく形質転換するだけでなく、NIH3T3細胞では検出されなかった未報告の癌遺伝子の検出も可能であることが示された。

この成果は、癌研究に大きく寄与するもので、学位に価する。