

Title	テラトカルシノーマF9細胞の分化誘導における遺伝子発現の調節について
Author(s)	岩井, 聡一
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38067
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	岩井 聡一
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 10697 号
学位授与年月日	平成 5 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	テラトカルシノーマ F 9 細胞の分化誘導における遺伝子発現の調節について
論文審査委員	(主査) 教授 作田 正義 (副査) 教授 鈴木不二男 助教授 石田 武 助教授 白砂 兼光

論文内容の要旨

テラトカルシノーマは初期胚体及び生殖細胞に由来する悪性腫瘍であり、胚性癌腫 (EC) 細胞を幹細胞として持つ。この EC 細胞は悪性腫瘍として無限の増殖能を示すと同時に三胚葉性組織に分化し初期胚と同じような多分化能を持つ。このことより未分化幹細胞から分化へと向かう機構及び腫瘍性増殖と分化の制御を解析する上で有用なモデルとなると考えられている。F 9 細胞にレチノイン酸 (retinoic acid; RA) を添加すると、内胚葉細胞へと分化する。一方、酪酸ナトリウム (sodium butyrate; NaB) によっても分化が誘導される。また、これら 2 つの薬剤による分化誘導系に対して、薬剤特異的の反応を取り除き遺伝学的手段として F 9 細胞の温度感受性変異株 (ts mutant) の非許容温度 (39°C) 培養による分化誘導系をすでに我々は確立している。この 3 つの異なる手段による分化誘導系は共に分化マーカー遺伝子 (laminin B1, endoA, t-PA, collagen type IV) の発現、PA 活性の増加等が見られ、分化形質を発現する。分化マーカー遺伝子の発現に先立ち、3 つの分化誘導系の初期段階において分化に関連する遺伝子の変動を調べることにより、その遺伝子の発現の誘導が或る誘導系にのみ特異的に見られる現象なのか、或は分化誘導系に共通して見られる現象であるのかを明らかにし、共通に発現のみられる遺伝子こそ分化誘導過程において重要な役割を担っている遺伝子であろうと考え、本実験を行なった。

方法 ; F 9 細胞に一定の処理を行なった後、AGPC 法により mRNA を抽出し、泳動、トランスファーを行ない、ランダムプライムラベリング法にて³²P-dCTP でラベルした cDNA プローブを用いてノーザンハイブリダイゼーションを行なった。シグナルはイメージアナライザーにて計測し、 β -actin によって補正を行ない定量化した。

その結果は以下のようになった。

1. RAR- β , MK 遺伝子の発現誘導は RA による分化誘導系にのみ見られた。従って、これらの遺伝子の発現は RA に反応して生じる現象であることが明らかとなった。
2. c-jun, Hoxl. 6, Oct-3 遺伝子の発現の変動は 3 つの分化誘導系において共通に認められた。従って、これらの遺伝子は分化誘導の初期において、分化形質の発現に対して重要な役割を担っていることが示唆された。
3. Hoxl. 6 遺伝子は、3 つの分化誘導系において c-jun, Oct-3 遺伝子より早期に発現の変動が見られた。このことより Hoxl. 6 遺伝子は、細胞分化に伴って現れる様々な変化の中でより早期に作動する遺伝子であることが示唆された。
4. Hoxl. 6 遺伝子の発現は 3 つの分化誘導系において、シクロヘキシミド (CHX) 共存下でも見られた。従って、

Hoxl. 6 遺伝子発現誘導は新たな蛋白質合成を介さずに起こることが明らかとなった。即ち、分化の誘導過程において直接的に作用することが明らかとなった。

5. Hoxl. 6 遺伝子の発現誘導が mRNA の安定化による結果ではなく、転写の増加による結果であることが明らかとなった。

以上より、c-jun, Hoxl. 6, Oct-3 遺伝子の発現誘導が分化過程において、後期に現れる分化マーカー遺伝子の発現を直接、或は間接的に制御していることが示唆された。特に、Hoxl. 6 遺伝子はこれらの核内転写調節因子の中で最も早期に、新たな蛋白質合成を介さずに発現誘導され、分化過程の初期段階において機能している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は未分化幹細胞が分化へと向かう機構及び腫瘍性増殖と分化の制御機構の一端を解明することを目的としたものである。そのための有用なモデルとしてテラトカルシノーマEC細胞 (F 9 細胞) を用い、3つの分化誘導系を設定して実験を行った。即ち、3つの分化誘導系の初期段階において分化に関連する遺伝子の発現を調べることにより、分化誘導過程において重要な役割を担っている遺伝子を明らかにしようとするものである。

その結果、c-jun, Hoxl. 6, Oct-3 遺伝子の発現誘導が分化過程において、後期に現れる分化マーカー遺伝子の発現を直接、或は間接的に制御していること、特に Hoxl. 6 遺伝子は新たな蛋白質合成を介さずに発現誘導され、分化過程の初期段階に機能している可能性が示唆された。

これらの結果は細胞の分化や腫瘍化の機構を解明する上で有用な情報を提供するものであり、本研究は博士 (歯学) の学位を授与するのに相応しいものである。