

Title	FRA1 is a determinant for the difference in RAS-induced transformation between human and rat fibroblasts
Author(s)	角元, 恭子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47508
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	かくもと きょうこ 角 元 恭 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 20592 号
学位授与年月日	平成 18 年 5 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	FRA1 is a determinant for the difference in RAS-induced transformation between human and rat fibroblasts (FRA1 はヒトと齧歯類の繊維芽細胞間で異なる RAS による癌化の違いを決定する)
論文審査委員	(主査) 教 授 辻本 賀英 (副査) 教 授 目加田英輔 教 授 岡田 雅人

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

古くからヒトの細胞は齧歯類の細胞に比べて癌遺伝子によって癌化しにくい事から、動物種間で癌化のメカニズムに違いがある事が知られている。1999年に Weinberg R.A (M.I.T.) らは、細胞の不死化に重要な役割を果たしているテロメラーゼの触媒部位 (hTERT) の強制発現によって、ヒトの正常細胞も齧歯類と同様に、活性化型 RAS と SV40 T 抗原などの癌遺伝子の組み合わせで癌化できると報告した。その一方で近年ようやく、動物種間での本質的な癌化のメカニズムの違いが報告されはじめて、我々の研究グループは、SV40 T 抗原で不死化させた齧歯類の正常細胞に活性化型 RAS を発現させると完全に癌化し、顕著な形態変化を示すが、hTERT と SV40 T 抗原で不死化させたヒトの正常細胞はラットと比較してその変化が遙かに軽微な事から、ヒトの細胞では未解明な癌化に対する抵抗性のメカニズムが備わっている事を報告した。本研究ではその抵抗性を解明するために、動物種間において活性化型 RAS で発現変動する遺伝子群の違いに着目して以下の様に解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

テロメラーゼ活性が強い齧歯類と比較するため、ヒトの細胞にレトロウイルスベクターを用いて hTERT を恒常的に発現させた後、p53、Rb、PP2A を不活化する SV40 T 抗原でラットとヒトの細胞を不死化させた細胞 (S) と、その細胞に活性化型 RAS を発現させた細胞 (SR) を作成して解析に用いた。まず活性化型 RAS により発現変動する下流の遺伝子群を解析するため、マイクロアレイにより各動物種の S 細胞と SR 細胞間を比較した。その結果、RAS が活性化した癌に深く関わる事が知られている AP1 ファミリーのうち、FRA1 だけに差が見られた。すなわち、齧歯類では RAS の発現に伴い FRA1 は発現亢進するが、ヒトでは起こらない事を見出した。癌化抵抗性を示すヒトの SR 細胞に FRA1 を過剰発現させると足場非依存性増殖能を獲得する事、さらに興味深い事に RAS が発現していないヒトの S 細胞に FRA1 を過剰発現させても癌化する事がわかった。

次にラットの細胞を用いて FRA1 の発現制御機構の解析を行った。ラットの SR 細胞を MEK の阻害剤で処理すると FRA1 の発現が完全に抑制され、また齧歯類の S 細胞に活性化型 MEK を発現させると SR 細胞と同程度の発現が

見られた事から MEK/ERK 依存的に制御されていた。それ故 MEK/ERK の活性を活性化部位のリン酸化状態をウェスタンブロット法で確認すると、RAS によるリン酸化の亢進には、動物種間で顕著な差は見られなかった。さらに詳しく調べるために *in vitro* kinase assay を行うと、両動物種とも RAS により MEK の活性は亢進していたが、ERK の活性はラットの細胞では強く亢進していたが、ヒトの細胞では微弱であった。

〔 総 括 〕

ヒトの正常細胞は齧歯類と異なり、癌遺伝子に対して抵抗性を示すため癌化しにくい事が知られている。本研究ではその抵抗性のメカニズムの一部を担う分子として FRA1 を同定した。FRA1 の発現が亢進する事で癌化しにくいヒトの細胞は癌化形質を獲得するようになり、更に活性化型 RAS を使わずに、転写因子と SV40 T 抗原の組み合わせだけで癌化する報告は初めてである。FRA1 は MEK/ERK 依存的に発現制御されており、ヒトの細胞では RAS による ERK の活性化が減弱しているために、下流の FRA1 の発現亢進が起らず、その結果、癌化に対する抵抗性を示す可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者は長年解明されていない、ヒトの正常細胞が齧歯類の正常細胞と比較して癌化しにくい原因を解明する事を目指した研究を行い、FRA1 の発現の違いを、同定し、更にその発現制御機構についても発表しました。癌遺伝子の活性化型 RAS と癌抑制遺伝子群を不活化させる SV40 T 抗原によって、齧歯類では完全な癌化が誘導される一方で、ヒトの細胞は癌化しにくい理由として、FRA1 の発現が起らない事、またヒトの正常細胞の癌化には FRA1 の発現亢進が重要である事を明確に示しております。

更に活性化型 RAS による ERK の活性化がヒトの細胞では齧歯類と比較して微弱であったため、FRA1 の発現誘導には至らない可能性を示しております。

以上の研究はヒトの発癌機構を理解する上で重要であると考え、学位の授与に値すると考えられます。