

氏名	高 崇
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 1978 号
学位授与の日付	平成12年3月25日
学位授与の要件	医学研究科病理系細胞性物学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Cytogenetic characteristics and p53 gene status of human teratocarcinoma PA-1 cells in 407-445 passages (ヒト卵巣悪性奇形腫PA-1細胞の継代培養407～445代における細胞遺伝学的性質およびp53遺伝子の状態)
論文審査委員	教授 清水 憲二 教授 工藤 尚文 教授 赤木 忠厚

学位論文内容の要旨

ヒト卵巣悪性奇形腫細胞株PA-1は20年近い継代培養の後も近二倍体性を維持している。この理由を明らかにする目的で、407～445 継代時の PA-1 細胞の p53 遺伝子の状態を DNA 塩基配列分析により検討し、また、その機能を FASAY (functional analysis of separated alleles in yeast) 法により解析した。

核型分析の結果、407～445 継代時の PA-1 細胞の核型は :46, XX, t(15;20) (15q20q;15p20p) であること、そして M₁ および M₂ のマーカー染色体をもっていることが明らかとなった。また、TR-PCR で増幅した cDNA の塩基配列分析により、407～445 継代した PA-1 細胞の p53 遺伝子の 1 つの allele に変異 (コドン 239 の変異) が生じていること、また、FASAY 法の結果より本細胞の変異型 p53 タンパクは不活性であることが判明した。そして、p53 により転写誘導される p21^{Waf1/Cip1/Sdi1} タンパクの発現が正常ヒト線維芽細胞に比べて低下していた。つまり、変異型 p53 タンパクが dominant-negative に作用したためと考えられる。しかし、PA-1 細胞は長期間の培養後も安定した近二倍体性を維持していることから、p53 遺伝子の変異だけでは染色体の不安定性は起こらないこと、染色体の不安定性を引き起こすには他の遺伝子にも異常が生じる必要があると考えられる。

論文審査結果の要旨

ヒト卵巣悪性奇形腫細胞株PA-1は20年近い継代培養の後も近二倍体性を維持している。本研究はこの細胞株における染色体の安定性の機構を明らかにするために、まずそのp53遺伝子の状態を解析したものである。407-445代継代培養した本細胞株の核型分析結果では、殆どが樹立時の二倍体性を維持し、ごく少数の近4倍体性細胞が見られた。副論文でこの近4倍体性細胞はアポトーシス様の細胞死を起こすことを報告している。塩基配列決定及び酵母を用いた機能的解析から、PA-1細胞はp53遺伝子の第239コドンにGln → Gluへのアミノ酸残基置換を起こすような点突然変異をもっていた。p21WAF蛋白の誘導能を見た結果から、この変異p53蛋白質は優性阻害作用を示すことが示された。このように、PA-1細胞の染色体構成はp53遺伝子の変異を持つにも関わらず安定性を示しており、p53遺伝子の変異だけでは染色体の不安定性は起こらないこと、他の遺伝子異常も必要であることなどが考えられた。

以上のように、本研究は癌細胞の染色体不安定性はp53遺伝子の変異だけでは不十分で、他の遺伝子異常も必要であることを明らかにしたもので、意義のある研究成果と認めた。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。