

審査の結果の要旨

氏名 千勝 紀生

本研究は、多段階発癌モデルにおいて、軽視されがちな自然選択が重要な役割を果たしていることを明らかにするため、ラット胎児線維芽細胞(REF)に *c-myc* と *EJ-ras* という二つの癌遺伝子を導入して得られた実験的腫瘍細胞に、進化生物学で検討されてきた二つの自然選択である r 選択と K 選択を適用したものである。 r 選択とは生物密度が低く、指数関数的に増殖する条件で働く選択であり、 K 選択とは生物密度が高い状態で働く選択である。この実験系において、下記の結果を得ている。

1. REF に *c-myc* と *EJ-ras* を導入して得られた腫瘍細胞には多倍体が混じることが以前から知られていたが、経時的に細胞集団の倍数性をフローサイトメトリーで調べたところ、多倍体は r 選択では出現せず、 K 選択では高率に出現した。また、6週間の r 選択後の K 選択では多倍体が出現することではなく、同期間の K 選択後の r 選択では速やかに4倍体は駆逐され、2倍体細胞が優勢となった。4倍体細胞の増殖は2倍体より遅く、 r 選択では増殖の最も速い細胞が選択されるため、4倍体細胞が出現しないと考えられた。
2. *c-myc* を遺伝子導入した系では癌抑制遺伝子 *p53* の経路に破綻が生じることが知られている。また、*p53* 経路の異常によって多倍体が出現する系も以前から報告がある。*p53* およびその上流にある *p19/ARF* を RT-PCR-SSCP で調べたところ、*p53* の点突然変異と、その後野性型アレルの消失(Loss of heterozygosity, LOH) が生じているものがあった。また、使用した REF には *INK4a/ARF* ローカスにポリモルフィズムないし点突然変異があり、ときに LOH、ときに発現の消失を認めた。
3. *p53* の変異の出現は K 選択よりも r 選択で高頻度に認められた。*p53* 変異のある細胞増殖は速いことが以前から知られており、本研究でも同様であ

った。この増殖が速いということが、*r* 選択で効率よく選択される理由であると考えられた。

4. 株化した四倍体細胞も含めた細胞にドキソルビシンを添加し、p53 蛋白およびその下流にある p21 蛋白の誘導をウェスタンブロッティングで検討したところ、四倍体細胞のなかに、p53 経路が正常であるものが存在した。

以上、本論文は REF に *c-myc* と EJ-*ras* を導入して得られる実験的腫瘍細胞において *r* 選択と *K* 選択という二つの自然選択を適用して、細胞の変化を解析することによって、多段階発癌において自然選択が重要な役割を果たすことを明らかにした。従来自然選択は遺伝子変異と比較して軽視されていたため、本研究は今後多段階発癌のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。