

審査の結果の要旨

氏名 福原 浩

本研究は、ヒト前立腺癌における新規がん抑制遺伝子を単離、同定するために、染色体微小核移入法にて染色体断片を前立腺癌培養細胞 PPC-1 細胞に導入して、その悪性形質を抑制するかどうかを検討したものである。

- (1) ヒト第 10 染色体短腕の単一導入断片を微小核移入法により前立腺がん培養細胞 PPC-1 へ導入し、6 種類のハイブリッド細胞を得た。単一導入断片を導入する際には、第 10 染色体短腕の単一導入断片を保持するヒト齧歯類雑種細胞を利用した。6 種類の単一導入断片を微小核移入法により PPC-1 細胞へ導入し、ネオマイシン G418 にて選択したところ、それぞれ 3 - 8 種類のハイブリッド細胞が得られた。これらのハイブリッド細胞に第 10 染色体が導入されているかは FISH により確認された。
- (2) PPC-1 由来のハイブリッド細胞の悪性形質を腫瘍原性にて解析した。親株の PPC-1 細胞では、7 週間以内に 15/16 注射部位に腫瘍が形成され、ハイブリッド細胞 P10C7-4, P10B7-1 では 8 注射部位中 6 箇所にも腫瘍が形成された。一方、ハイブリッド細胞 P10E1-2, P10D6-4, P10D4-3, P10D5-4 は 12 週目に判定したところ、それぞれ 1/8、2/8、2/12、1/12 部位にしか腫瘍が認められなかった。
- (3) がん抑制遺伝子があると推察される領域を決定するため、それぞれのハイブリッド細胞に保持されている染色体断片の領域を、多型マーカーを用いて解析した。D10S1779 の解析では、HA(10)A 由来の DNA 断片が 4 種類のハイブリッド細胞 P10E1-2, P10D6-4, P10D4-3, P10D5-4 で認められ、これはマーカー D10S1779 を含む領域が導入され保持されていることを示している。一方、マーカー D10S1720 の解析では、HA(10)A 由来の断片はハイブリッド細胞 P10E1-2 と P10D6-4 でのみ保持されていた。P10D5-4 細胞以外のハイブリッド細胞では、連続した単一の断片だけが保持されていた。腫瘍原性を抑制した 3 種類のハイブリッド細胞 P10E1-2, P10D6-4, P10D4-3 はマーカー D10S1172 および D10S1720 間で区切られる染色体部位を保持しており、2 箇所以上の連続していない染色体断片を有する抑制細胞 P10D5-4 でも同部位を保持していた。
- (4) さらに PPC-1 細胞に導入する前のヒトハムスター雑種細胞を解析し、さらなる限局化を行った。ハイブリッド細胞 P10D4-3 はヒトハムスター雑種細胞 C10D4 由来であるので、C10D4 細胞の PCR 解析を行ったところ、C10D4 細胞はマーカー D10S226 を保持していないことが明らかとなった。同様の PCR 解析にて、C10D4 細胞はマーカー D10S1172 および D10S1779 を保持しているが、D10S226 および D10S1720 は保持していないことが明らかとなった。このように 4

種類の抑制ハイブリッド細胞に保持されている領域はD10S1172 およびD10S226 で区切られる領域に局限された。これは上記で区切られる約 1.2 Mb の領域内に前立腺がん抑制遺伝子が位置することを示唆している。

以上、本論文では染色体微小核移入法にて第 10 染色体断片を前立腺培養細胞 PPC-1 細胞に導入し、第 10 染色体短腕(10p15.1)上の約 1.2 cM の領域に PPC-1 細胞の悪性形質を抑制する遺伝子が存在することを示した。また、PPC-1 細胞はホルモン不応性前立腺癌であるため、この遺伝子がホルモン不応性前立腺癌に関与している可能性も示唆される。以上、前立腺がん抑制遺伝子の解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。