

[別紙2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 山 道 光 恵

本研究は、ヒト副腎腺癌由来細胞である SW13 細胞における、クロマチンリモデリング因子 SWI/SNF 複合体の触媒サブユニットをコードする *BRG1*、*Brm* 遺伝子の発現制御の解析を行い、下記の結果を得ている。

1. SW13細胞は、SWI/SNF複合体の必須の触媒サブユニットであるBRG1とBrmの発現が検出されない細胞であると報告されている。また、この細胞株は、中間径フィラメントであるvimentinタンパクを発現している細胞 (SW13 (vim+)) と発現していない細胞 (SW13 (vim-)) が混在していることも報告されている。しかし、この細胞を限界希釈によりクローニングし、vimentinタンパクの有無によってSW13 (vim+) とSW13 (vim-) に分類したところ、SW13 (vim+) クローンではいずれのクローンでも培養下の全ての細胞で *BRG1* と *Brm* 遺伝子の発現が認められた。また、SW13 (vim-) クローンはいずれもこれらの発現が検出されなかった。これらのことから、SW13 (vim+) ではBRG1とBrmのどちらのタンパク質も発現が回復しており、クローニング後のSW13 (vim-) 細胞とSW13 (vim+) 細胞の表現型は継代を繰り返しても長期に安定であることがわかった。
2. SW13 (vim+) 細胞では、BRG1、Brmのタンパク発現回復によって、AP-1制御下の遺伝子である *vimentin*、*CD44*、*c-met*、*collagenase* 遺伝子の発

現が転写レベルで活性化されていることが示された。

3. SW13 (vim-) 細胞にHDAC阻害剤を添加すると*BRG1*、*Brm*遺伝子の発現が回復し、AP-1制御下の遺伝子の発現に関してもSW13 (vim+) と同様の性質を示したことから、この細胞では*BRG1*、*Brm*遺伝子に変異があるわけではなく、その発現はエピジェネティカルに抑制されていることが示された。また、SW13 (vim-) はSW13 (vim+) に転換可能であることが示唆された。
4. SW13 (vim-) では*BRG1*、*Brm*遺伝子のmRNAは発現していないが、これらの遺伝子はSW13 (vim+) と同様に高い頻度で転写開始を受け、しかも全遺伝子領域で伸長反応が進行していた。これらのことから、SW13 (vim-) においては *BRG1*、*Brm* 遺伝子が転写を受けた後に負に制御 (post-transcriptional suppression) を受けていることがわかった。また、SW13 (vim-) にHDAC阻害剤を添加した場合でも、*BRG1*と*Brm*遺伝子の転写量に変動はなかったことから、HDAC阻害剤は、*BRG1*と*Brm*遺伝子の転写活性化に直接作用しているのではなく、SW13 (vim+) で特異的に機能していると思われる転写後の抑制に拮抗する因子の転写の活性化をしている可能性が高いことも明らかになった。

以上、本論文は、SW13細胞が*BRG1*と*Brm*遺伝子のmRNA成熟過程を転写後に制御することにより低い頻度で二つの細胞型を変換しうることを示した。この細胞で見られる転写後抑制は、いくつかの他のヒト癌細胞における*Brm*遺伝子発現制御においても観察されたことから、癌細胞における遺伝子発現制御機構の解明に大きく貢献することが考えられ、学位の授与に値するともので考えられる。