

京都大学	博士（医学）	氏 名	縄 田 寿 克
論文題目	Dysregulation of Gene Expression in the Artificial Human Trisomy Cells of Chromosome 8 Associated with Transformed Cell Phenotypes （ヒト正常細胞における 8 番染色体トリソミー化による遺伝子発現異常とがん形質の関与）		
（論文内容の要旨）			
細胞分裂の際、染色体の分配に失敗すると娘細胞において染色体の消失や増加が生じる。染色体が 1 本増えた状態をトリソミー、1 本消失している状態をモノソミーといい、先天的にこのような異常を持つと発達障害や精神遅滞が生じると考えられている。現在に至るまで染色体数の異常はがんの特徴であるという証拠は蓄積しているにも関わらず、その因果関係は明らかになっていない。 マウス胎仔由来線維芽細胞、ヒト結腸直腸癌細胞や不死化ヒト上皮細胞などで染色体が 1 本増えると、トリソミーとなった染色体上の遺伝子発現の平均値が上昇することが報告されている。しかし正常ヒト細胞での報告はない。ヒト正常細胞はマウス細胞、がん細胞、不死化細胞と違い、細胞分裂をしつづけると老化する。マウス細胞、がん細胞、不死化細胞は、DNA 損傷や染色体異常が自然に発生しているが、ヒト正常細胞では発生しない。そのためヒトにおける染色体数異常の影響を調べるためには、最終的にはヒト正常細胞を用いて検証を行わなくてはならない。染色体数異常の最も単純なモデルは染色体が 1 本増えたトリソミーである。本実験ではヒト正常線維芽細胞様細胞にヒト 8 番染色体を移入し、8 番染色体トリソミー細胞を作成することにより、ヒト正常細胞における染色体数異常の影響を調べた。 線維芽細胞由来のがんで最も観察される染色体数異常は 8 番染色体の増加である。そこで染色体移入法を用いてヒト正常線維芽細胞様細胞に 8 番染色体を移入することにより、人工的に 8 番染色体トリソミー細胞を作成した。 マウス胎仔由来線維芽細胞がトリソミーになると細胞増殖能が低下することが報告されている。8 番染色体トリソミー細胞においても同様の細胞増殖能低下が観察された。 がん細胞の特徴の一つに不死化がある。正常細胞は細胞分裂を繰り返した後、最終的に分裂できなくなり、細胞老化に至る。そこで 8 番染色体トリソミー化が不死化を引き起こすかどうかを確認した。8 番染色体トリソミー細胞は 1 0 ～ 2 0 回細胞分裂をした後、細胞分裂を停止した。しかし、1 ヶ月後、一部の細胞が再増殖をはじめコロニーを形成した。このような細胞増殖停止後の再増殖は正常細胞では確認されなかった。ただ最終的にはどの 8 番染色体トリソミー細胞も不死化には至らなかった。 DNA の二重鎖切断はがんの初期に見られる。またそのような DNA の損傷の蓄積ががんの原因であると考えられている。そこで染色体が 1 本増えることにより DNA 損傷が誘発されるのかどうかを、微小核形成率、γ-H2AX と 53BP1 フォーサイの数、染色体解析を行うことにより調べた。微小核形成率、γ-H2AX と 53BP1 フォーサイの数では、正常細胞と 8 番染色体トリソミー細胞に差はなかったが、染色体解析では、構造異常が 8 番染色体トリソミー細胞で増えていることが判明した。 染色体が 1 本増えることにより、全染色体上の遺伝子の発現にどのような変化が現れるのかを調べるために、網羅的遺伝子発現解析をおこなった。マウス胎仔由来線維芽細胞、ヒト結腸直腸癌細胞や不死化ヒト上皮細胞などで報告されているように、ヒト正常細胞においてもトリソミーとなった染色体上の遺伝子発現の平均値が上昇した。またトリソミーとなった染色体以外の染色体上の遺伝子発現			

の平均値は低下した。
以上のことからヒト正常細胞において染色体が 1 本増えると、全染色体上の遺伝子において発現の乱れが生じ、細胞老化後の再増殖や染色体不安定性などのがん形質の一部を獲得することが確認された。
（論文審査の結果の要旨）
現在、がん化の機構としてもっとも受入れられている説は「多段階突然変異説」である。しかし、細胞がん化頻度は、単独の遺伝子突然変異頻度に比べて桁外れに大きく、その程度は、全てのがん関連遺伝子が同時に突然変異を起こしたとしても及ばないほど大きい。この事実は、発がんの突然変異説の再検証の必要性を示唆する。この背景にあって、申請者は、がん研究の黎明期から注目されているがん化の初期に染色体異数化が起きることに注目し「細胞がん化経路には DNA 損傷起源と染色体異数化起源がある」とする作業仮説を提案し研究をおこなった。
実際には、ヒト胎児由来正常細胞に微小核融合染色体導入法で 1 本の染色体を移入し、人工的にトリソミー細胞を作製し、その細胞における発がん形質発現を調べた。その結果、8 番染色体をトリソミー化した細胞では、トリソミー化した染色体に存在する遺伝子に限らず、全ての染色体に存在する多数の遺伝子の発現状態に大幅な変化が生じ、それに伴い、細胞形態悪性化と細胞寿命の延長、遺伝的不安定性亢進など一連のがん化形質を発現するようになることを発見した。本研究では、残念ながらヒト細胞を完全にがん化させることに成功しなかったが、たった 1 本の染色体数変化でがん化形質発現状態がダイナミックに変化することを明確に示した学術的価値は大きく、「染色体異数化が発がんの引き金になっている可能性がある」とする結論は容認できる。
以上の研究は、ヒトにおける発がん機構の解明に貢献し、ひいてはがん予防及びがん治療医学の発展に寄与するところが多い。
したがって、本論文は、博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 2 月 17 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。