

宮本 裕士 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

腫瘍抑制因子 p53 の新規標的遺伝子およびアポトーシス制御因子としての UNC5A の同定
(UNC5A , a novel transcriptional target of tumor suppressor p53 , is a regulator of apoptosis.)

軸索ガイダンス分子 UNC5A は、netrin-1 の受容体として神経系の発生と分化に重要な役割を担っている。最近、UNC5A を含む軸索ガイダンス分子が、神経系以外の細胞においてアポトーシスを制御していることが明らかとなった。本研究は UNC5A が p53 により転写制御を受ける標的遺伝子として、アポトーシスを制御している可能性について検証することを目的として行われた。

p53 遺伝子を強制発現させた場合(外因性 p53 誘導)と、p53-knockdown 細胞と対照細胞に DNA 障害を加えた場合(内因性 p53 誘導)における UNC5A mRNA を RT-PCR 法により解析したところ、UNC5A は外因性および内因性の p53 誘導によって共に強い発現が誘導され、p53 依存性の発現が明らかとなった。さらにクロマチン免疫沈降およびレポーター解析を用いて、UNC5A 遺伝子の p53 結合候補配列に p53 蛋白が結合して転写活性を示すことが確認され、UNC5A が p53 の標的遺伝子であることが明らかとなった。またコロニー形成解析において、UNC5A の過剰発現により2種類の神経膠芽腫細胞株において、有意にコロニーの増殖が抑制された。さらに UNC5A 組み換えアデノウイルスを腫瘍細胞株へ感染させた後にフローサイトメトリー解析を行い、UNC5A が大腸癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫などの多様な腫瘍細胞株において、カスパーゼ3の活性化を介してアポトーシスを誘導することを観察した。また、ガンマ線照射された p53 +/+ マウスの脾臓と結腸では UNC5A の発現が強く誘導されたが、p53 -/- マウスでは発現誘導が認められなかった。これらの結果から、生体内においても UNC5A の転写が p53 により制御されることが示唆された。

以上より、UNC5A が p53 による転写制御を受ける新規標的遺伝子であり、p53 依存性アポトーシスにおいて重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

審査では、1) UNC5A の発現増加による細胞増殖抑制の本態、2) UNC5A により誘導される細胞死の分子機構と、その Netrin-1 による抑制の有無、3) UNC5A に Netrin-1 が結合すると細胞生存が促進する機序、4) 4種類の UNC5A の発現の組織特異性の相違と4種類存在することの生物学的意義、5) UNC5A, B, C, D 遺伝子の染色体上での局在、腫瘍細胞における変異の性格と癌化との関連、6) 3種類のアポトーシス経路の多様なストレス応答における作動状況と機能の差異、7) p53 遺伝子による Netrin-1 の発現制御の有無、8) 大腸における Netrin-1 の発現と発癌との関係、9) 癌細胞株における Netrin-1 産生の有無、10) Netrin-1 が共存しない in vitro 実験系が in vivo 現象を反映するか、などについての質疑がなされ、申請者より概ね的確な回答がなされた。

本研究は、UNC5A が p53 による転写制御を受ける新規標的遺伝子であり、p53 依存性アポトーシスに重要な役割を演じていることを明らかにした。さらに UNC5A が癌抑制遺伝子としての性格を持ち、癌化に関与する可能性を示したものであり、優れた研究として学位の授与に値すると評価した。

審査委員長 免疫識別学担当教授

西村 春治

審査結果

学位申請者名： 宮本 裕士

専攻分野： 消化器外科学

学位論文名：

腫瘍抑制因子 p53 の新規標的遺伝子およびアポトーシス制御因子としての UNC5A の同定
(UNC5A , a novel transcriptional target of tumor suppressor p53 ,
is a regulator of apoptosis.)

指導教員名： 馬場 秀夫

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成 22年 2月 3日

審査委員長 免疫識別学担当教授

西村 泰治

審査委員 分子遺伝学担当教授

尾池 雄一

審査委員 病態情報解析学担当教授

安東 由喜雄

審査委員 微生物学担当教授

赤池 孝章