

氏 名 (本籍)	やす 安	だ 田	かつ 勝	ひろ 洋
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	医 博 第 2 6 2 0 号			
学位授与年月日	平 成 2 0 年 9 月 1 0 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻			
学位論文題目	p53 の細胞内局在が細胞周期とアポトーシス誘導 能に及ぼす影響に関する研究			

(主 査)

論文審査委員	教授 石 岡 千加史	教授 貫 和 敏 博
	教授 小 野 栄 夫	

論文内容要旨

p53は塩基配列特異的転写因子であり、細胞にDNA損傷が加わるとリン酸化やアセチル化などの翻訳後修飾を受けた後、核へ蓄積する。細胞内に移行した活性化p53は下流遺伝子の転写活性化を引き起こし、p53依存性アポトーシスや細胞周期停止を引き起こす。この転写依存性アポトーシスとは異なる転写非依存性アポトーシスが存在することが報告されているが、その分子メカニズムは未だ明らかにされていない。また、p53にはヒト培養細胞において野生型p53より強いアポトーシス誘導能を有するいわゆる「super p53」変異体として、S121F変異体の存在が知られている。「super p53」変異体のアポトーシス誘導能と転写活性化能の相関性を調べるために、ヒト培養細胞を用いてアポトーシス誘導能に関連すると考えられるp53の標的遺伝子に対する転写活性化能を評価し、アポトーシス誘導能と比較した研究結果が以前報告されたが、p53のアポトーシス誘導能と標的遺伝子の転写活性化能との間に明らかな相関性は認められなかった。このことからp53ミスセンス変異体のアポトーシス誘導能には下流遺伝子の転写活性化が関与している可能性と転写非依存性アポトーシス経路が関与している可能性が示唆された。本研究ではp53のアポトーシス誘導能と細胞内局在との関係を明らかにする目的で、S121F変異体と細胞質局在を示すR306G変異体、およびその2重変異体をドキシサイクリン存在下で発現誘導できる安定発現SF126細胞株を樹立しそれらについてcell viability assayとFACS、定量的リアルタイムRT-PCRにより解析を行った。その結果S121F変異体は核局在の場合と同様に細胞質局在する場合、強いアポトーシス誘導能を保持することが判明した。野生型p53は核に局在する場合と同様に細胞質局在する場合、細胞周期停止を示した。また定量的リアルタイムRT-PCRの結果、野生型p53およびS121F変異体は細胞質に局在する場合、核局在の場合と同様に下流遺伝子の発現が一定程度見られ、その場合のp53下流遺伝子発現プロファイルはp53が核内、細胞質にあっても類似していることが明らかになった。その結果S121F変異体が細胞質に局在する場合において、アポトーシス誘導能に対する、転写依存性メカニズムの関与が示唆された。

審査結果の要旨

学位申請者・安田勝洋君は、p53がん抑制遺伝子産物の機能、特にその変異体アポトーシス誘導に関する細胞内メカニズムの研究に取り組み、p53の転写非依存性メカニズムについて新規の知見を得た。すなわち、申請者は、アポトーシス誘導能が野生型p53よりも強いS121F変異体と、細胞質局在を示すR306G変異体、およびその二重変異体をドキシサイクリン存在下で発現誘導できる安定発現株を作成し、p53の細胞内局在がアポトーシス誘導能に与える影響について解析を行った。その結果、S121F変異体は核局在の場合と同様に細胞質局在する場合、アポトーシス誘導能を保持することを明らかにした。また、p53の塩基配列特異的転写に関する下流遺伝子の定量的リアルタイムRT-PCRにより、野生型p53およびS121F変異体が細胞質に局在する場合、核局在の場合と同様に下流遺伝子の発現が一定程度見られ、その場合のp53下流遺伝子発現プロファイルはp53が核内、細胞質にあっても類似していることを明らかにした。総じて、研究結果から、S121F変異体が細胞質に局在する場合において、アポトーシス誘導能に関して転写依存性メカニズムが関与することを示唆するデータを得た。これらの研究成果は、p53のアポトーシス誘導に関する新たな知見を含み、将来、がん薬物療法や放射線治療による新しいがん治療の方法を探索する上で有用な成果であると認められる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

