

氏 名 おおた かずしげ 太田 一成

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学位授与年月日 平成 22 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項

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 転写因子 Bach1 の機能解析による細胞老化関連遺伝子および  
そのネットワークの解明

論文審査委員 主査 教授 伊藤 貞嘉 教授 五十嵐 和彦  
教授 中山 啓子 教授 佐藤 靖史

## 論 文 内 容 要 旨

がん抑制因子である p53 や pRb (retinoblastoma protein) による発がん防御機構として、細胞老化の重要性が示されている。細胞老化により不可逆的な増殖停止が起こり、性状の変化した細胞の増殖を阻止する。酸化ストレスはがん化の要因となる一方で、p53 経路や Rb 経路を活性化して細胞老化を引き起こす。p53 標的遺伝子において、アポトーシスや一過性の細胞周期停止、DNA 損傷応答に関わる遺伝子群は詳しく解析されているが、細胞老化に関わる遺伝子群およびそのネットワークについては不明な点が多い。

転写因子 Bach1 (BTB and CNC homology-1) は p53 と複合体を形成することで p53 の転写活性を抑制し、酸化ストレス誘導性の細胞老化を抑制する。Bach1 欠損マウス由来の MEF (mouse embryonic fibroblast; マウス胎児線維芽細胞) では、酸素 3% 下では細胞増殖能は野生型に比較して変わらないが、20% 下では早期に細胞増殖能が低下し、細胞老化の状態を呈する。本研究では Bach1 欠損 MEF を細胞老化のモデルとし、細胞老化に関わる p53 標的遺伝子群を同定することを試みた。

まず Bach1 欠損 MEF では、細胞老化誘導およびその維持が p19<sup>ARF</sup> および p53 に依存し、野生型に比して pRb が早期に脱リン酸化されることを示した。細胞老化に伴い誘導される遺伝子の中から、Bach1-p53 経路で制御される遺伝子群をマイクロアレイで同定し、それらの遺伝子が細胞老化の誘導および維持に関与するかどうかをノックダウン法にて調べた。単一の遺伝子のノックダウンでは効果がなかったが、p21、Noxa を含む複数の遺伝子を組み合わせると若い Bach1 欠損 MEF の細胞増殖能が改善した。老化した Bach1 欠損 MEF でも同様に p21、Noxa を含む複数の遺伝子を組み合わせると、弱いながらも再増殖が認められた。加えて pRb を同時にノックダウンすることにより、強い再増殖が認められた。pRb と p21 の 2 つのノックダウンにより効果的に細胞老化の誘導が抑制され、細胞老化の維持ができなくなることから、p53 の下流で複数の因子が pRb 活性化に作用して p21 とともに細胞老化を誘導し、維持することが示唆された。また野生型 MEF の細胞老化においても同様の因子の関与を確認した。

以上の結果から、細胞老化の誘導および維持には細胞周期、アポトーシスに関わる複数の p53 標的遺伝子が必要であり、p21 は Rb 経路非依存的にも機能することが示された。

## 審査結果の要旨

博士論文題名 転写因子 Bach1 の機能解析による細胞老化関連遺伝子およびそのネットワークの解明

所属専攻・分野名 内科系 専攻・ 腎・高血圧・内分泌学 分野

氏名 太田 一成

がん抑制因子である p53 や pRb(retinoblastoma protein)による発がん防御機構として、細胞老化の重要性が示されている。細胞老化により不可逆的な増殖停止が起こり、性状の変化した細胞の増殖を阻止する。酸化ストレスはがん化の要因となる一方で、p53 経路や Rb 経路を活性化して細胞老化を引き起こす。

転写因子 Bach1(BTB and CNC homology-1)は p53 と複合体を形成することで p53 の転写活性を抑制し、酸化ストレス誘導性の細胞老化を抑制する。Bach1 欠損マウス由来の MEF(mouse embryonic fibroblast：マウス胎児線維芽細胞)では、酸素 20%下で早期に細胞増殖能が低下し、細胞老化の状態を呈する。本研究では Bach1 欠損 MEF を細胞老化のモデルとし、細胞老化に関わる p53 標的遺伝子群を同定することを試みた。細胞老化に伴い誘導される遺伝子の中から、Bach1-p53 経路で制御される遺伝子群をマイクロアレイで同定し、それらの遺伝子が細胞老化の誘導および維持に関与するかどうかをノックダウン法にて調べた。単一の遺伝子ノックダウンでは効果がなかったものの、p21、Noxa を含む複数の遺伝子を組み合わせると細胞増殖能が改善することが示された。また pRb と p21 の 2 つのノックダウンにより効果的に細胞老化の誘導が抑制され、細胞老化の維持ができなくなることから、p53 の下流で複数の因子が pRb 活性化に作用して p21 とともに細胞老化を誘導し、維持することが示唆された。

以上の結果から、細胞老化の誘導および維持には細胞周期、アポトーシスに関わる複数の p53 標的遺伝子が必要であり、p21 は Rb 経路非依存的にも機能することが示唆されている。研究は方法を含めて適切に行われており、得られた成績も新規の知見である。

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。