

審査の結果の要旨

氏名 鵜木元香

本研究は癌抑制遺伝子 PTEN のシグナルが核へ伝達された以降の細胞増殖抑制並びにアポトーシス誘導に至るシグナル伝達分子を cDNA マイクロアレイ法にて網羅的に同定し機能解析を行う事を主目的とし、シグナル伝達因子の 1 つとして同定した EGR2 のアポトーシス誘導機構をアデノウイルス発現系にて解析し、下記の結果を得ている。

1. cDNA マイクロアレイを用いて PTEN 遺伝子の導入により発現が誘導される遺伝子 91 種類と抑制される遺伝子 67 種類を同定した。発現が誘導される遺伝子のうち、卵巣癌検体を用いたマイクロアレイの結果との比較により卵巣癌症例において発現が低下していた 6 種類の遺伝子 (*EGR2/Krox-20*, *BPOZ*, *HCLS1/HS1*, *DUSP1/MKP1*, *NFIL3/E4BP4*, *PINK1*) を PTEN の下流で癌抑制機能を持つ遺伝子の候補として選んだ。
2. 候補遺伝子を発現プラスミドベクターに組み込み細胞に導入して、これらの遺伝子の発現が細胞増殖に与える影響を検討した結果、*BPOZ* と *EGR2* が顕著な細胞増殖抑制能を持つ事が明らかとなった。アンチセンスオリゴ導入により *BPOZ* 並びに *EGR2* の発現を抑制すると細胞の増殖が速くなることより、この 2 遺伝子が癌抑制機能を持つ事が示唆された。
3. アデノウイルスベクター *AdCAEGR2* を作製し、大腸癌、子宮体癌、神経膠芽細胞腫など 6 臓器由来の計 39 癌細胞株に *in vitro* で感染させたところ、33 細胞株において顕著にアポトーシスが誘導された。*EGR2* の発現は用いた癌細胞株の大半において低下しており、この発現調節に *EGR2* 遺伝子のイントロン 1 の CpG 領域のメチル化が関与している可能性が示唆された。また、*EGR2* によるアポトーシス誘導機構を cDNA マイクロ

アレイ及びレポータージーンアッセイ、ゲルシフトアッセイにて検討した。その結果、pro-apoptotic Bcl-2 ファミリーのメンバーである BNIP3L と BAK が EGR2 により直接転写誘導を受けることが明らかとなった。誘導された BNIP3L、BAK によってミトコンドリアの膜透過性が変化し、チトクローム c が細胞質へ放出され、それに伴いカスパーゼ 9、3 が活性化されることを明らかにした。Death ligand/receptor を介するアポトーシス誘導経路についても検討したが、TNF α が EGR2 により誘導されるもののその時期は BNIP3L や BAK の発現が誘導される時間よりも遅く、EGR2 によるアポトーシスはミトコンドリアを介する経路を主経路としていると考えられた。

以上、本論文は PTEN の下流遺伝子の解析から EGR2 をその候補遺伝子として同定し、EGR2 のアポトーシス誘導機構の一端を明らかにした。本研究はこれまであまり研究が進んでいない PTEN のシグナルが核へ伝達された以降のシグナル伝達因子を同定した点において、PTEN のシグナル伝達機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。