

審査の結果の要旨

氏名 白土 敬之

本研究は、癌抑制遺伝子である p53 の未知の機能を解明するために、ゲノムに存在する機能的な p53 結合配列を網羅的に探索し、近傍に存在する p53 標的遺伝子を単離して、その機能解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 単離した p53 結合配列をプローブとして、新規 p53 標的遺伝子 Brain-specific Angiogenesis Inhibitor 1、BAI1 を単離した。BAI1 遺伝子は、イントロンに p53 結合配列を持ち、p53 により発現誘導されることが確認された。BAI1 遺伝子は脳に特異的に発現しており、7 回膜貫通型の膜蛋白質をコードしていると推測された。BAI1 蛋白質の細胞外領域には、TSP-type 1 repeat 配列が存在しており、この領域の組換え蛋白質に、血管新生阻害活性があることが、ラット角膜を用いた血管新生阻害実験にて明らかとなった。
2. BAI1 遺伝子に高い相同性を示す2つの新規遺伝子 BAI2、BAI3 を単離した。これら遺伝子に存在する TSP-type 1 repeat 配列領域と7回膜貫通領域は、BAI1 遺伝子と高い相同性を示し、これらの領域は BAI 蛋白質の機能に極めて重要な領域であると考えられた。glioblastoma 細胞株で BAI 遺伝子の発現を調べたところ、初代培養 astrocytes と比較して BAI1 遺伝子、あるいは BAI3 遺伝子の発現の低下・減少が認められる細胞株が存在することから、BAI1、BAI3 遺伝子が glioblastoma の発生、進展に抑制的に働いていることが示唆された。
3. yeast two-hybrid system を用いた実験により、BAI1 蛋白質細胞内領域に結合する 3 つの新規遺伝子、BAP1、BAIAP2、BAP3 を単離した。BAP1 蛋白質は MAGUK ファミリーに属し、PDZ domain を介して BAI1 蛋白質と結合していることが示された。BAIAP2 蛋白質は、SH3 domain を介して BAI1 蛋白質に結合し、核へも移行できるシグナル伝達物質として機能していることが示唆された。BAP3 は、C2 domain を有しており、Ca²⁺ の濃度上昇を感知するセンサー的な働きをしていると考えられた。これら遺伝子も BAI1 と同様に脳に多く発現しており、ヒト脳各部位

[別紙2]

における発現パターンが、神経系の細胞に特異的に発現している neuron-specific gamma enolase(NSE)と酷似しており、神経細胞で機能していることが示唆された。

4. ラット胎児より調整した growth cone 画分に BAI1 蛋白質が濃縮されていることが明らかとなった。また、COS-7 細胞を用いて一過性に BAI1 発現 vector を導入すると、COS-7 細胞は非常に細い filopodia 様の擬足を伸ばし、細胞の形態が変化することが観察された。同様な変化をもたらす遺伝子である GAP-43 も BAI1 蛋白質と同様、growth cone 画分に存在することから、BAI1 蛋白質も神経細胞で機能している可能性が示唆された。

以上、本研究で新規に単離された p53 標的分子である BAI1 遺伝子は、血管新生阻害活性を有すると同時に、神経系の細胞においてもシグナル伝達に関与する蛋白質と相互作用することが示された。本研究は、p53 が血管新生阻害活性を持つ BAI1 遺伝子の発現調節を介して、癌抑制遺伝子として機能している可能性を明らかにするとともに、BAI1 遺伝子の神経系における機能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。