

審査の結果の要旨

氏名 渋谷 司

本研究は、発がんの抑制に重要であるとされる p53 依存性アポトーシスの機構について、p53 依存性に発現誘導を受ける BH3-only 因子 Noxa の果たす役割を中心に解析を試みたものである。Noxa 遺伝子欠損マウスの作製および解析、さらには Noxa の強制発現を用いた系における解析などから、下記に示すような結果を得ている。

1. マウス胎仔線維芽細胞 (MEF) にアデノウイルス E1A を発現させ、DNA 傷害を加えた際に見られるアポトーシスは p53 の遺伝子欠損によりほぼ完全に抑制されるが、Noxa の遺伝子欠損によっても部分的に抑制される。この結果は、MEF の E1A 依存性アポトーシスにおいて Noxa が重要な役割を果たすことを示している。また、Noxa の遺伝子欠損に、Bcl-2 ファミリーに属するアポトーシス促進因子をコードする Bax の遺伝子欠損を加えることで、さらに強いアポトーシスの抑制が見られる。
2. 胸腺細胞に X 線照射を行った際のアポトーシスは p53 の遺伝子欠損によりほぼ完全に抑制されるが、この系においては、Noxa の遺伝子欠損によるアポトーシスの抑制は見られない。また、Noxa, Bax の両遺伝子を欠損させた際にもアポトーシスの抑制は見られない。
3. MEF に E1A と活性型 Ras を発現させ、メチルセルロース含有培地上でのコロニー形成を見る系において、Noxa 遺伝子を欠損した MEF においては、野生型 MEF の場合よりも多くのコロニーの形成が見られる。この結果は、E1A や活性型 Ras といったがん遺伝子による細胞の形質転換が、Noxa の遺伝子欠損により促進されることを示している。Noxa, Bax 両遺伝子欠損の MEF においてはさらに多くのコロニーの形成が見られる。
4. NIH3T3 細胞に Noxa を単独で発現させた際にはアポトーシスの誘導は見られない。同細胞に Noxa とアデノウイルス E1A を共発現させるとアポトーシスの誘導が見られる。一方、Noxa と同じ BH3-only 因子である Puma に関しては、NIH3T3 細胞に単独で発現させた際にもアポトーシスの誘導が見られる。

5. マウスに全身 X 線照射を行った際、小腸陰窩の幹細胞領域に存在する上皮細胞においては、p53 依存性にアポトーシスが誘導される。また、血管内皮細胞を中心とした小腸の粘膜固有層の細胞においては p53 非依存性にアポトーシスが誘導される。この 2 種の細胞におけるアポトーシスのいずれもが、*Noxa* 遺伝子欠損マウスにおいて抑制される。さらに、*Noxa* 遺伝子欠損マウスにおいては、野生型マウスと比較して全身 X 線照射後の生存日数が延長される。
6. MEF に抗がん剤による長時間の処理や高線量の紫外線照射により重度の DNA 傷害を加えた際のアポトーシスは、*Noxa* の遺伝子欠損により抑制される。一方、これらの系に関して、p53 遺伝子欠損 MEF においては必ずしもアポトーシスの抑制は見られない。p53 依存性に転写活性化される *p21^{WAF1/Cip1}* の遺伝子欠損 MEF において野生型 MEF よりも強いアポトーシスの誘導が見られることから、これらの系において p53 は、*Noxa* の誘導等を介してアポトーシスを促進する経路に加えて、*p21^{WAF1/Cip1}* の誘導等を介してアポトーシスを抑制する経路をも同時に活性化していると考えられる。

以上、本研究は p53 依存性に進行するアポトーシスのうち、MEF の E1A 依存性アポトーシス、およびマウス全身 X 線照射時の小腸陰窩の上皮細胞のアポトーシスにおいて、*Noxa* が重要な役割を果たすことを示した。さらに、重度の DNA 傷害を受けた MEF において、p53 が *Noxa* の誘導等を介したアポトーシス促進の経路に加えてアポトーシス抑制の経路をも同時に活性化する、ということを明らかにした。本研究は p53 依存性アポトーシスの機構の理解に重要な貢献をなすものであり、学位の授与に値すると思われる。