

審査の結果の要旨

氏名 穴澤 嘉雄

本研究は p53 遺伝子治療に代わる新たな遺伝子治療候補遺伝子の検索を目的とし、アポトーシスをより優位に誘導することが報告されている変異型 p53—121F を活用し、p53 依存性アポトーシスに関与する遺伝子の単離とその機能解析を行ったものであり、以下の結果を得ている。

1. CDNA マイクロアレイ法を用いて、p53 依存性アポトーシスに関与する遺伝子検索を試行した結果、STAG1 遺伝子を同定した。外来性および内在性 p53 依存性の STAG1 転写発現誘導をノザン解析およびウェスタン解析により明らかにした。また、クロマチン免疫沈降法により STAG1 遺伝子が p53 標的遺伝子である可能性が示された。
2. 野生型 p53 をもつ大腸癌細胞株 LS174T に対する種々の UV 照射および付随するフローサイトメトリー解析、ウェスタン解析から STAG1 は細胞が重篤な DNA ストレスを受けた際に発現誘導される可能性が示された。
3. 一過性の強制発現によるコロニーフォーメーションアッセイの結果、外来性 STAG1 発現は細胞増殖に対して抑制的に作用することが示された。またアデノウイルスベクターを用いた STAG1 発現は TUNEL 法によりアポトーシス誘導活性を有することが示された。また、RNAi 法による STAG1 発現抑制は外来性および内在性 p53 により誘導されるアポトーシス反応を減少させ、内在性 STAG1 が強制発現系同様にアポトーシス誘導に関与することが示された。
4. 8 種類の癌細胞株に対するアポトーシス誘導活性をフローサイトメトリーにより検討した結果、アデノウイルスベクターを用いた STAG1 発現は、p53 発現よりも強力なアポトーシス誘導活性をもつ可能性が示された。
5. 固形腫瘍において *STAG1* 発現量が亢進している報告が散見されるが、本研究において作成した抗 STAG1 抗体によるウェスタン解析、既存の報告およびデータベースに登録されている STAG1 配列情報から STAG1 は細胞

の種類や外界からの刺激の種類により転写調節機構が変化する可能性が示唆された。

以上、本論文は cDNA マイクロアレイを用いた網羅的な手法により、p53 より強力なアポトーシス誘導活性を有する STAG1 遺伝子を同定し、機能解析から p53 による抗腫瘍メカニズムの解明、および p53 に代わる新たな遺伝子治療法の可能性を示唆した重要な意義をもつものと考えられ、学位の授与に値すると考える。