

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 小 織

本研究は BH3-only タンパク Noxa の腫瘍特異的なアポトーシス誘導作用を、同じく BH3-only タンパク Puma のアポトーシス誘導と比較することにより *in vitro*、*in vivo* においての解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. NIH3T3 細胞を用いた解析から、Noxa はがん遺伝子 E1A を共発現させた細胞にのみアポトーシスを誘導することが明らかとなり、E1A 発現 3T3 細胞で pro-apoptotic タンパク Bax の活性化が生じているため、Noxa の発現がさらに Bax 活性化をもたらシアポトーシスを誘導するというアポトーシス機構の存在が示唆された。一方 Puma は E1A の有無に関らずアポトーシスを誘導すること、その Puma の強力なアポトーシス誘導では細胞内カルシウム濃度上昇・カルパイン活性化・カスパーズ 12 活性化を伴い pro-apoptotic タンパクを活性化する、今まで未知であった経路をとることが示された。
2. Noxa および Puma を発現させるアデノウイルスベクターを作製して、ヒト乳がん細胞株、ヒト線維肉腫細胞株とそれらに対応するヒト正常細胞に Noxa や Puma を発現させ、各々のアポトーシス誘導について解析したところ、Puma はどの細胞にもアポトーシスを誘導するが、Noxa はがん細胞株にアポトーシスを誘導し、正常乳腺細胞株および正常線維芽細胞には細胞死を生じさせないことが示された。
3. ヒト乳がん細胞株のひとつである HBC4 細胞やヒト線維肉腫細胞株 HT1080 をヌードマウスに移植して担がんさせ、そのがん組織に上記の Noxa・Puma 発現アデノウイルスベクターないし p53 発現アデノウイルスベクターを腫瘍内注射して、その効果についてコントロールベクターを投与した場合と比較したところ、Noxa および Puma を発現させた場合はいずれも HBC4 由来腫瘍の退縮や HT1080 由来腫瘍の増大抑制が観察された。また、腫瘍抑制効果は p53 よりも Noxa や Puma を発現させた場合のほうがより効率的であることが示された。
4. ヌードマウスの皮下組織に直接 Noxa ないし Puma 発現アデノウイルスベクターを注射してその影響を比較したところ、Noxa を発現させた皮下組織にはアポトーシスを生じた細胞がほとんど観察されなかったが、Puma を発現させた場合は著明なアポトーシス誘導が生じていることが示された。
5. Noxa に感受性を示したヒト乳腺細胞株のいくつかは、もともと Bax の活性化が生じていることが示された。従って、E1A 発現 NIH3T3 細胞と同様に、さらに Noxa が発現して Bax 活性化が増強されることにより、アポトーシスが誘導されることが明らかとな

以上、本論文は、今まで未知であった BH3-only タンパクの機能を解明したとともに、その腫瘍特異性から、Noxa は今までにない遺伝子治療の対象分子として臨床面においても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。