

審査の結果の要旨

氏名 津田 祐輔

本研究はがん抑制遺伝子 p53 の骨における標的遺伝子を RNA seq を用いて網羅的に解析し、新規 p53 標的遺伝子の発見と骨肉腫発生における p53 変異の意義を探索したものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型及び p53 欠損マウスに 10Gy の全身放射線照射を行い、各群 3 サンプル計 12 サンプル (p53+/+, p53-/-、照射有、照射無) について RNA sequence を施行した。RNA sequence 解析から 23813 遺伝子の発現情報が得られた。p53+/+、放射線照射有群において、その他の群と比較して発現が 2 倍より大きく上昇する遺伝子として、69 遺伝子が抽出された。2 倍に上昇する遺伝子セットを用いて DAVID でパスウェイ解析を行ったところ、p53 signaling pathway が最も上位であり cytokine-cytokine receptor interaction (CD137L を含む)、TGF-beta signaling pathway (FST を含む) が次に関連するパスウェイとして挙げられた。
2. 骨において発現誘導される新規遺伝子群について骨肉腫細胞株を用いてスクリーニングを行い、p53 依存的に誘導される新規遺伝子として CD137L、CDC42BPG、FST を同定した。これらの 3 遺伝子はレポーターアッセイと CHIP アッセイの結果から、p53 により直接転写誘導される遺伝子であることが分かった。また、コロニー形成アッセイを行い、これらの 3 遺伝子は細胞増殖を負に制御することが分かった。
3. 骨でのみ誘導される CD137L に着目し機能解析を行った。融合タンパクを作成して解析を行い、CD137L は両方向性のシグナルに関与しており、逆向きシグナルは細胞増殖能の低下、正方向シグナルは免疫応答を増強する作用を持つことを明らかにした。また、CD137L 融合タンパクはマウスモデルにおいて増殖能を低下させ、新規治療標的となりうる可能性が示唆された。

以上、本論文は RNA sequence 解析を用いて骨において p53 が制御する遺伝子やパスウェイの全体像を明らかにし、CD137L の骨肉腫発生における意義と治療標的としての可能性を示したものである。これらは、骨肉腫発生における p53 変異の意義解明と新規治療標的の同定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。