

氏 名	矢野 貴士
学位(専攻分野)	博士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 83 号
学位授与の日付	平成 18 年 7 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	生命科学研究所 高次生命科学専攻
学位論文題目	胃上皮細胞の TGF- β 誘導性アポトーシスにおけるがん抑制遺伝子 RUNX3 の関与

論文調査委員	(主 査) 教授 下遠野邦忠	教授 米原 伸	教授 眞貝 洋一
--------	-------------------	---------	----------

論 文 内 容 の 要 旨

多くのがんで、TGF- β シグナル伝達系に関与する遺伝子には、遺伝子異常が頻繁に認められる。RUNX3 は、胃がんにおいて高頻度に変化されていることが報告されているがん抑制遺伝子であるが、これは TGF- β シグナル伝達系の下流で機能する遺伝子であり、Smad と結合し標的遺伝子の発現制御を担っていることが報告されている。申請者はこれまで Runx3-/- マウス胃上皮細胞において TGF- β 誘導性アポトーシスが顕著に抑制されることを報告した。そこで申請者は本研究において、その TGF- β 誘導性アポトーシスのメカニズムの解明を目指した。

ヒト胃がん由来細胞株、SNU16 および SNU719 細胞において、TGF- β により Bim の発現が誘導され、ドミナントネガティブ RUNX3 [RUNX3 (1-187)] またはアンチセンス DNA によって RUNX3 を不活性化すると、この Bim の発現誘導および TGF- β によるアポトーシスが抑制された。さらに siRNA によって Bim の発現を抑制することによっても、このアポトーシスが抑制されたことから、両細胞は RUNX3 依存的に TGF- β 誘導性アポトーシスを示し、その際に発現の上昇する Bim がこのアポトーシスに必須であることが明らかになった。ヒト Bim プロモーターには RUNX 結合部位と Smad 結合部位が存在している。レポーターアッセイにより両結合部位が Bim の発現制御に必須であることを、またゲルシフトアッセイおよびクロマチン免疫沈降により、それら RUNX 結合部位には RUNX3 が直接結合することを示された。さらにヌードマウスを用いた造腫瘍実験の結果、RUNX3(1-187) は Bim の発現を抑制し、SNU16 の造腫瘍能を増大させることが明らかになった。一方、Runx3-/- マウス胃上皮細胞においては Bim の発現が低下し、アポトーシスは Bim-/- マウスにおけるそれと同程度に減少していた。加えて、TGF- β 1、TGF- β レセプターの発現が野生型マウスと Runx3-/- マウスの胃上皮細胞で同程度であること、TGF- β 1-/- マウスでは、Bim の発現が野生型胃上皮細胞にくらべ明らかに低下していることを確認した。

以上により、申請者は胃上皮細胞における TGF- β 誘導性アポトーシスは RUNX3 が TGF- β 依存性に活性化されて Bim の発現を促進することによって起こることを示した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は遺伝子発現の低下またはタンパク質局在の異常により、80%以上の胃がん症例において RUNX3 の機能が不活化していることを報告した。RUNX3 はマウス胃上皮細胞におけるアポトーシスを正に制御していることが報告されているが、RUNX3 によるこのアポトーシス制御の分子メカニズムは、明らかにされておらず、RUNX3 がどのような分子メカニズムでがん化を抑制しているのか未だ不明である。申請者は、胃がん細胞株および種々のマウスモデルを用いて、胃上皮細胞における RUNX3 の関与する TGF- β 誘導性アポトーシスのメカニズムの解明を試みた。そして in vitro, in vivo の実験系を用いた解析から、胃上皮細胞における TGF- β 誘導性アポトーシスにおいて、アポトーシス誘導因子、Bim が、RUNX3 によって転写誘導を受け、がん抑制能に寄与していることを明らかにした。この研究成果は、がん抑制シグナル伝

達系と呼ばれる TGF- β シグナルの下流で機能する RUNX3 の、胃がんにおけるがん抑制遺伝子としての作用機序のひとつを明らかにし、さらに TGF- β 誘導性アポトーシスの分子機構、あるいは TGF- β 誘導性アポトーシスとがん化との関わりにおいて、新たな視点を与えたと思われる。一連の研究を行う上で、ウェスタンブロット、免疫組織化学染色やレポーターアッセイをはじめとした博士課程中に習得すべき実験技術を十分に身に付け、得られた実験結果を十分に理解し、それに基づいて作業仮説を構築し、それを検証するための研究を進める能力を十分に身につけたと思われる。RUNX3 の不活化は発がんの初期段階において高頻度で起こるので、免疫染色やメチル化の検出による RUNX3 の不活化を検出することは、胃がん診断における有用な手段であると考えられている。Bim が胃上皮細胞において RUNX3 により正に制御されるという本研究の解析結果に基づくと、Bim も RUNX3 と同様、胃がん診断における有用な分子マーカーとなりうると期待できる。従って本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値のあるものと認められる。なお、本学位授与申請者は平成18年6月6日に論文内容及びそれに関連した口頭試問を受け、合格と認められた。