

氏 名	やま ぎし のぶ ゆき 山 岸 伸 行
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1853 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 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	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Decrease in the frequency of x-ray-induced mutation by wild-type p53 protein in human osteosarcoma cells (p53 蛋白によるヒト骨肉腫由来細胞の放射線誘発突然変異の抑制)
論文調査委員	(主 査) 教 授 池 永 満 生 教 授 平 岡 眞 寛 教 授 武 部 啓

論 文 内 容 の 要 旨

遺伝情報を担う DNA はさまざまな外的環境因子や内的因子によって絶えず損傷を受けている。それらのうち修復されずに残った DNA 損傷は細胞死をもたらしたり、突然変異やがん化の原因になることがある。がん化は多段階的にがんとしての表現形質を獲得していく過程であり、その過程には多数の遺伝子の変異が関与していると考えられている。p53 遺伝子はヒトの種々の腫瘍において高頻度に欠失や突然変異が検出されているがん抑制遺伝子である。その転写産物は DNA 損傷を修復するために細胞周期を一時的に停止させることにより、細胞の遺伝情報の維持に関与すると考えられている。このような機能を持つ p53 蛋白の異常は、遺伝子増幅や染色体異常などを含む遺伝子の変異を蓄積させ、細胞のがん化を促進させると予想される。従来、p53 蛋白の機能に関する多くの研究は p53 遺伝子が異常な細胞と正常な細胞の比較により行われてきた。p53 遺伝子に異常をもつ細胞では多くの他の遺伝子に変異が生じており、それらの変異の影響によって p53 蛋白の機能が正確に評価できていないおそれがある。本研究では、他の遺伝子変異の影響を受けないように p53 蛋白の発現を制御できる細胞株を用いて、放射線感受性および放射線誘発突然変異において p53 蛋白の発現がどのような影響を及ぼすかについて解析することを目的とした。

p53 蛋白の発現が制御できる細胞を得るために、isopropyl- β -D(-)-thiogalactopyranoside (IPTG) 誘導性 p53 発現プラスミドを作製し、p53 遺伝子を完全に欠損している細胞（ヒト骨肉腫由来 Saos-2 細胞）に導入した。選択培地中で培養することにより得られたクローン細胞の約半数では、IPTG を培養液中に添加によって p53 遺伝子の発現が誘導された。誘導 p53 蛋白は細胞核内へ蓄積し、p53 蛋白により誘導されるサイクリン依存性キナーゼ阻害蛋白 p21^{WAF1/CIP1/SDI1} の発現や p53 応答配列を介した遺伝子発現の誘導も観察された。以上のことから、p53 蛋白が誘導されるクローン細胞では誘導された p53 蛋白が細胞内で正常に機能していると判断した。以下、誘導される p53 蛋白量が異なる 2 種類のクローン細胞を用いて、致死効果を指標とした放射線感受性および hypoxanthine-guanine phosphoribosyl trans-

ferase 遺伝子座の放射線誘発突然変異における p53 蛋白の影響について検討した。p53 蛋白の発現は放射線感受性に影響を与えなかった。p53 蛋白の誘導により自然突然変異頻度の変化は認められなかったが、放射線誘発突然変異は放射線照射前に p53 蛋白を誘導することにより有意に抑制された。放射線照射された細胞では p53 蛋白を誘導することによって G1 期における一時的な細胞周期の停止が観察された。

以上の結果は p53 蛋白が損傷を受けた細胞の細胞周期を制御して、遺伝子突然変異を抑制していることを示しており、p53 蛋白は損傷を受けた細胞のゲノム安定性の維持に重要な機能を果たしていると結論づけることができる。p53 蛋白の発現は放射線による遺伝子突然変異を抑制することから、p53 蛋白の機能欠損は放射線発がん過程においてがん化またはがんの悪性化に関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

p53 遺伝子はヒトの種々の腫瘍において高頻度に欠失や突然変異が検出されるがん抑制遺伝子である。p53 蛋白の異常は、遺伝子増幅や染色体異常などを含む遺伝子の変異を蓄積させ、細胞のがん化を促進させると予想される。本研究は、他の遺伝子変異の影響を受けないように p53 蛋白の発現を抑制できる細胞株を用いて、放射線感受性および放射線誘発突然変異に対して p53 蛋白の発現がどのような影響を及ぼすかを解析することを目的とした。p53 蛋白の発現は放射線感受性に影響を与えなかった。p53 蛋白の誘導により自然突然変異頻度の変化は認められなかったが、放射線誘発突然変異は放射線照射前に p53 蛋白を誘導することにより有意に抑制された。放射線照射された細胞では p53 蛋白を誘導することによって G1 期における一時的な細胞周期の停止が観察された。以上の結果は p53 蛋白が損傷を受けた細胞の細胞周期を抑制して、遺伝子突然変異を抑制していることを示しており、p53 蛋白は損傷を受けた細胞のゲノム安定性の維持に重要な役割を果たしていると結論づけることができる。

以上の研究は放射線の遺伝子への作用機構の解明に貢献し、放射線遺伝学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 9 年 1 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。