

氏 名	うえ だ とし ひこ 上 田 俊 彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2386 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 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	c-IAP2 is induced by ionizing radiation through NF- κ B binding sites. (C-IAP2は放射線照射により NF- κ B 結合部位を介して誘導される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 丹 羽 太 貫 教 授 武 田 俊 一 教 授 野 田 亮

論 文 内 容 の 要 旨

低線量の放射線に応答する遺伝子プロモーターは、放射線照射と組みあわせる事によって、局所治療効果の高い新たながん遺伝子治療法の開発に役立つ可能性がある。本研究では、レトロウイルス・ベクターを用いた遺伝子トラップ法により、このようなプロモーターの単離を試みた。

すなわち、遺伝子トラップ・ベクター（スプライス・アクセプターにつないだ選択マーカー遺伝子を持つプロモーター欠損型レトロウイルス・ベクター）をヒト肺がん由来細胞株 A549 に感染させ、薬剤選択によって先ず1450個の遺伝子トラップ・ラインを単離した。これらを、放射線類似薬剤ブレオマイシンへの応答性を指標としてスクリーニングし、得られた候補細胞の X 線応答性を確認するという方法により、低線量 X 線によってマーカー遺伝子発現の誘導が見られる4個のトラップ・ラインを得た。5'-RACE 法による標的遺伝子断片の単離と一次構造解析の結果、そのうちの1つが、アポトーシス関連遺伝子 c-IAP2 であることが見出された。そこで、c-IAP2 遺伝子上流プロモーター領域を単離し、X 線応答に関与するシス・エレメントの解析を行った。すなわち、様々な長さの c-IAP2 プロモーター断片の下流にルシフェラーゼ遺伝子をつないだレポーター・ベクターを作成し、これらの X 線応答性を調べた。その結果、転写開始点より約200塩基上流に位置する NF- κ B 結合部位が X 線への応答性に必要十分であることがわかった。

次に、遺伝子治療への応用の可能性を探る目的で、c-IAP2 プロモーター由来の NF- κ B 結合部位を4回反復させた人工プロモーターの下流にアポトーシス誘導遺伝子 Bax をつないだベクターを作成し、これを A549 に導入して X 線に対する感受性を調べた。その結果、2Gy の X 線を照射した場合、NF- κ B 結合部位を持つベクターを導入した細胞は、NF- κ B 結合部位を持たないコントロール・ベクターを導入した細胞に比べ、より高い細胞障害を受ける事が確認された。

以上の結果より、c-IAP2 遺伝子が、プロモーター中の NF- κ B 結合部位を介して低線量の X 線に応答することが示され、また、この NF- κ B 結合部位は、放射線治療と組み合わせた遺伝子治療に有用である可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者らは、ヒト肺がん由来細胞株 (A549) を標的として、レトロウイルス・ベクターを用いた遺伝子トラップ法により、低線量 X 線に応答する遺伝子の探索を試みた。その結果、得られた4個の候補遺伝子のうち、1つが、アポトーシス関連遺伝子 c-IAP2 であることを見出した。そこで、c-IAP2 遺伝子上流プロモーター領域を単離し、ルシフェラーゼをレポーターとしたプロモーター解析を行ったところ、転写開始点より約200塩基上流に位置する NF- κ B 結合部位が X 線への応答性に必要十分であることがわかった。この配列を4回反復させた人工プロモーターの下流にアポトーシス誘導遺伝子 Bax をつないだベクターを作成し、これを導入した A549 細胞を X 線照射したところ、2Gy において有意な細胞死誘導の増強効果が見られた。

以上の研究は、がん細胞の放射線応答機構の解明に貢献すると共に、新たながんの放射線遺伝子治療法の開発に寄与する

可能性がある。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13年3月5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。