

た むら やすし

氏 名	田 村 康
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第1183号
学位授与の日付	平成17年 3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	Predisposition to mouse thymic lymphomas in response to ionizing radiation depends on variant alleles encoding metal-responsive transcription factor-1(<i>Mtf-1</i>) (放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の疾患感受性素因は <i>Mtf-1</i> 遺伝子の多様性による)
論文審査委員	主査 教授 安 保 徹 副査 教授 青 柳 豊 副査 教授 木 南 凌

博士論文の要旨

がんになり易さ、体質も遺伝的要因によって左右される。その要因としてがん感受性遺伝子の存在が上げられる。このがん感受性遺伝子は浸透率は低い、発がんに影響を与えている頻度が高いことが特徴である。我々は放射線誘発マウス胸腺リンパ腫における発がんの系統差 (MSM 系統は抵抗性、BALB/c 系統は感受性) を用いてこのがん感受性遺伝子の解析を行っており、これまでの連鎖解析の結果からマウス 4 番染色体のマーカーD4Mit12 座を含む約 35Mb 領域内に BALB/c 由来の発がん感受性遺伝子の存在を確認している (Saito, et al. Oncogene 2001)。

今回、4 番染色体上の感受性遺伝子座の同定と候補遺伝子の解析を行った。まず、line 1 から line 4 の 4 系統のコンジェニックマウスを作成し同様の照射実験を行い高密度マッピングを行った。その結果、line 3 では D4Mit73 座が BALB/c アレルと MSM アレルの heterozygotes のマウスが MSM アレルの homozygotes のそれに比し、リンパ腫発症を上昇 ($p=0.018$) させ、line 4 では予想に反して D4Mit336 座が heterozygotes の場合に抵抗性を与える ($p=0.022$) 結果となった。これらの結果から line 3 には存在し、line 4 には含まれない領域、すなわち、122Mb-124.5Mb までの約 2.5Mb 領域内に BALB/c 由来の感受性遺伝子座を限定することができた。更に、この候補領域の多型染色体構造を調べ (Haplotype mapping)、同領域をセントロメア側 1Mb とテロメア側 1.5Mb の 2 つの領域に分割しアレルの起源と各系統マウスの発がん感受性を比較した。文献上ではこの領域近傍の AKR 系統アレルは発がん抵抗性を、C57L/j 系統のアレルは発がん感受性を与えることから、セントロメア側 1Mb 領域が感受性遺伝子座と考えられた。

この 1Mb 領域内に胸腺・骨髄で発現している既知遺伝子として *Inpp5b* と *Mtf-1* の 2 つが上げられた。マウス *Mtf-1* は 675 アミノ酸からなる蛋白質で N 末端側に DNA 結合領域を、C 末端側に転写活性領域をもち酸化ストレス、重金属負荷、低酸素など様々な細胞障害ストレス時に、メタロチオネイン (MT1) などのストレス応答蛋白を誘導・制御する転写因子である。我々はこの *Mtf-1* を候補遺伝子と考え解析を行った。半定量 RT-PCR ではマウス系統間での胸腺での発現量に差は無かったが、多型解析では転写活性領域内の 424 番目のアミ

ノ酸置換 (P424S) をもたらす系統間の遺伝子多型を認めた。この多型と系統間の発がん感受性を比較すると、抵抗性系統の proline に対し感受性系統は serine という多型を示していた。次に *Mtf-1* null (-/-) 細胞に ser-type もしくは pro-type の *mMtf-1* を組み込んだプラスミド DNA をトランスフェクションし in vitro での $ZnCl_2$ による転写誘導効率をルシフェラーゼ活性で比較した。その結果、pro-type の *Mtf-1* がより高い誘導効率を示した。更に、マウスの放射線照射による in vivo での *Mtf-1* の転写誘導効率を標的遺伝子である *MT1*、*PIGF* の発現量で比較した結果、pro-type の *Mtf-1* アレルをもつコンジェニックマウスや AKR 系統マウスでの発現量が ser-type をもつ BALB/c 系統のそれに比べ増加していることが判明した。これらの結果から pro-type の *Mtf-1* アレルをもつマウスは照射ストレスおよびリンパ腫発症に抵抗性を示すと考えられた。

今後、ヒト *Mtf-1* および周辺領域の多型解析と放射線照射による二次性発がんとの関わり、*Mtf-1* 阻害時の腫瘍に対する照射治療や抗癌剤治療の増感作用への影響などを解析していく必要があると思われる。

審査結果の要旨

申請者達は放射線誘発マウス胸腺リンパ腫のがん感受性遺伝子解析を行っており、4番染色体の 35Mb 領域内にその存在を確認している。今回、申請者は高密度マッピングを行い同領域を 2.5Mb に限定し、多型染色体構造と各系統間の発がん感受性を比較することにより 1Mb 領域内に感受性遺伝子座を同定した。この領域の既知遺伝子は *Inpp5b* と *Mtf-1* であり、後者は細胞障害ストレス時にメタロチオネイン (MT1) 等の蛋白を誘導・制御する転写因子である。申請者はこの *Mtf-1* を候補遺伝子とし解析を行い、系統間の遺伝子発現量に差を認めなかったが、転写活性領域内に遺伝子多型 (P424S) を認めた (抵抗性系統の proline、感受性系統は serine)。この *Mtf-1* 多型の転写誘導効率を Luciferase 活性で比較すると pro-type でより高い誘導効率を示した。更に、異なる *Mtf-1* アレルをもつマウスへの放射線照射による標的遺伝子発現の比較でも pro-type のマウスで発現量増加を認め、この多型がリンパ腫発症に影響を与えていると考えられた。今後、ヒトの多型解析と放射線照射による二次性発がんとの関わり、*Mtf-1* 阻害による照射、抗癌剤増感作用の影響を解析する必要がある。以上の点に学位論文としての価値を認めた。