

学位授与番号	医博乙第1549号		
学位授与年月日	平成14年3月6日		
氏名	高倉 正博		
学位論文題目	Cloning of Human Telomerase Catalytic Subunit (hTERT) Gene Promoter and Identification of Proximal Core Promoter Sequences Essential for Transcriptional Activation in Immortalized and Cancer Cells (テロメラーゼ酵素活性サブユニット (hTERT) 遺伝子プロモーターのクローニングと不死化細胞や癌細胞における転写活性化に必要なコアプロモーター領域の同定)		
論文審査委員	主査	教授	山本 博
	副査	教授	村上 清史
		教授	佐藤 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

染色体末端構造のテロメアは染色体の欠失・融合等を防ぐキャップの働きをしている。このテロメアを延長する酵素テロメラーゼは癌の90%以上で活性化されており、細胞の不死化と癌化に強く関与していると考えられている。テロメラーゼを構成する三つの主なサブユニットのうち human telomerase reverse transcriptase (hTERT) は逆転写酵素活性を持ち、その発現の有無がテロメラーゼ活性の決定因子となっているが、転写調節機構は不明であった。著者は転写開始点から上流約 3.5kbp にいたるゲノム DNA をクローニングし機能解析を行った。

単離したクローンは 3347bp の 5'隣接域を含んでいた。転写開始点から上流 200bp は GC に富み TATA box を欠いていた。また、5ヶ所の Sp1 結合コンセンサス配列と 2ヶ所の E box コンセンサス配列が存在した。hTERT プロモーター配列 1.4kbp を組み込んだルシフェラーゼレポータープラスミドを用いてテロメラーゼ活性陽性の癌細胞株およびテロメラーゼ活性陰性の正常細胞でプロモーター活性を調べたところ、癌細胞では高い活性を認めた。これに対し正常細胞での活性は極めて低く、hTERT の発現が主としてプロモーターの活性によって制御されていることが確認された。また、SV40LT 導入により正常からマウスでの造腫瘍能の獲得まで一連の形質変化を示す線維芽細胞系列を用いた解析で、senescence を越えて不死化へといたる段階で hTERT プロモーターが活性化され、テロメラーゼが発現されることが明らかになった。Deletion mutant analysis を行ったところ、転写開始点から上流 181bp 以下では著明に転写活性が減弱したことから、この領域を hTERT のコアプロモーター領域と同定した。ゲルシフト法により c-Myc, Sp1 のこの領域への結合が確認され、さらに、c-Myc の発現ベクターを細胞に導入したところプロモーター活性の増強が認められたことから、Sp1 および E-box に結合する c-Myc などの転写因子が hTERT の基本的な転写活性の維持に重要と推測された。

以上、本研究は、hTERT という細胞の不死化や老化に関わる重要な遺伝子に関して、プロモーターのクローニングに国際的にもはじめて成功し、転写調節機構を世界に先駆けて明らかにしたものであり、がん医科学を含む医学生物学のはば広い領域に貢献する価値ある研究と判断された。