

## 最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院 顎顔面外科学講座 吉田 羊子 に対する最終試験は、主査 槻木恵一 教授、副査 浜田信城 教授、副査 吉野文彦 准教授により、主論文ならびに関連事項につき口頭試問をもって行われた。

また、外国語の試験は、主査 槻木 恵一教授によって、英語の文献読解力について筆答により行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 教 授      槻 木   恵 一

副 査 教 授      浜 田   信 城

副 査 准 教 授      吉 野   文 彦

# 論文審査要旨

新たな転写因子の検索法についての研究

～BRAK の発現上昇に関与する転写因子の検索～

神奈川歯科大学 顎顔面外科学講座

本学卒業生 吉田羊子

(指導： 久保田英朗 教授)

主査教授 槻木 恵一

副査教授 浜田 信城

副査准教授 吉野 文彦

## 論文審査要旨

BRAK/CXCL14(BRAK)はアミノ末端にグルタミン酸、ロイシン、アルギニン残基からなるトリペプチド配列を含まない(non-ELR motif)抗腫瘍性ケモカインに分類され、頭頸部扁平上皮癌に対して抗腫瘍効果を有する分子として同定された。一般的に BRAK は、すべての正常組織で発現しているが、頭頸部扁平上皮癌をはじめとした多くの悪性腫瘍で発現の低下もしくは消失する遺伝子である。本研究は、BRAK 発現調節に関わる転写因子の検出を行うことを目的としている。

転写因子を検索する第一歩は、標的とする分子の遺伝子発現を変動させる刺激の検索であるが、著者らは上皮分化誘導刺激の一つである高密度細胞培養で BRAK の遺伝子発現が上昇することをすでに明らかにしている。申請者の研究は、その実験系を用いナラプロテクノロジーのデータマイニング技術を利用し、専門的な手技を必要としない簡易的な転写因子検索法を見出し、BRAK の発現上昇に関与する転写因子の同定を可能とした点が最も評価できる。

転写因子の同定は、関連する多くの文献検索を行い候補転写因子の抽出後、プロモーターアッセイ、ChiP アッセイ、及びゲルシフトアッセイ等の手法を用いて同定するが、実際にはその実験手技の習熟や、特殊な設備が必要で非常に困難である。本研究では、まずマイクロアレイ解析を行い、BRAK と同時に発現変動する遺伝子の解析を無作為的に行っている。さらに、ナラプロテクノロジーのデータマイニングを使用し、BRAK 発現調節に関与する転写因子群をスクリーニングし、SP1、BACH2、PAX5、JUN、NFκB の5つの転写因子候補を抽出している。また、BRAK のプロモーター領域に結合できる配列をもつ転写因子が SP1 のみであることから、その Sh-RNA を頭頸部扁平上皮癌細胞である HSC-3 細胞に導入し、BRAK の遺伝子発現変動を検討し、SP1 が細胞密度に対する BRAK の発現上昇に関与する転写因子であることを明らかにしている。

上記の研究報告をもとに本審査会は、申請者に対し本研究の意義、研究方法、研究結果の解釈について詳細に説明を求めた。特に正常細胞の BRAK 発現調節に対する SP1 の関与、本手法に関わる研究委託費用などについて言及した。これらの質問項目に対し、申請者からは的確な回答がなされた。最後に本研究結果は、従来非常に困難であった転写因子の同定に新知見を示したもので、汎用性のある研究であることが説明された。

以上の結果、本研究が今後の歯科臨床の発展に貢献するものと判断し、本審査委員会は申請者が博士(歯学)の学位に十分値するものと認めた。