氏名	JAYARANI FATIMAH PUTRI
学位の種類	博　士（生物科学）
学位記番号	博　甲　第　８５６０　号
学位授与年月日	平成　３０年　３月　２３日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Bioinformatics and Experimental Studies on the Selected Molecular Targets of Some Anticancer Drugs （抗がん剤の分子標的に関する分子生物学的研究）
主査	筑波大学准教授　理学博士　坂本　和一
副査	筑波大学教授　博士（医学）　千葉　智樹
副査	筑波大学准教授　博士（理学）　桑山　秀一
副査	筑波大学教授　理学博士　古久保-徳永　克男

論　文　の　要　旨

本論文は、細胞周期停止やアポトーシスに関わる p53 と DNA 修復に重要な働きをするポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ-1（PARP1）の二つの癌関連遺伝子に着目し、バイオインフォマティクス技術を用いて癌抑制に働く分子機構を解析し、論述したものである。

癌は体内の複数の器官同士または器官あたりの複数のシステムに発生する複雑な疾患で、古くから世界的にも死亡原因の上位を占める。近年、生物学や医学に加え、バイオインフォマティクスやコンピューターサイエンスを統合した癌研究のアプローチが盛んに行われており、疾病の診断や治療、予後を改善するための分子メカニズムを知る上で、遺伝子とタンパク質の相互作用とネットワークの解析が重要な役割を果たしている。したがって、癌のバイオインフォマティクス解析は癌の臨床医学研究を行う上で最も先進的で重要な中核的ツールであると言える。本論文は、p53 と PARP1 の二つの癌関連遺伝子に着目し、バイオインフォマティクス技術を用いて癌抑制に働く分子メカニズムを明らかにすることを目的としている。

本論文で著者は、単独で使用する抗癌剤として 5-アザ-2'-デオキシシチジン (5-Aza-dC) および CL2A-44 に焦点を当てて解析を行っている。

本論文の第一章で著者は、低メチル化抗癌剤 5-Aza-dC の新しい機能について、バイオケミインフォマティクスアプローチを適用して分析を行っている。まず著者は、5-Aza-dC による p53 の誘導について培養癌細胞を用いた *in vitro* の系で解析を行った。さらに著者は、バイオインフォマティクス技術を用いて、標的タンパク質およびその生物学的活性を予測した。その結果、著者は、5-Aza-dC は p53 の誘導剤、または複数の酵素の阻害剤、または DNA 損傷応答の誘導に関わる MDM2、POLA1、POLB、CXCR4 およびそのタンパク質標的の阻害剤として機能する可能性があることを明らかにした。さらに著者は、HDM2 が 5-

AZA-dC の標的の一つであり、p53 経路の活性化と細胞の増殖停止をもたらす可能性があることを述べている。さらに、5-AZA-dC と他の 3 種の薬剤との併用療法が薬剤耐性を引き起こすことを見出している。第一章において著者は、5-Aza-dC 誘導性の細胞増殖抑制が細胞増殖表現型を制御するマルチモジュール薬物であると結論づけている。

第二章で著者は、スクリーニングアッセイにより 12000 を超える化合物から選択された候補薬物の一つ CL2A-44 に着目している。本論文で著者は、バイオインフォマティクス分析により CL2A-44 の標的タンパク質が PARP1 であり、既に知られている PARP1 阻害剤と同様に機能することを見出した。著者は、CL2A-44 が子宮頸癌由来の HeLa 細胞における PARP1 の発現をタンパク質および mRNA レベルで阻害することを確認している。また、CL2A-44 によって PARP1 が阻害されることにより、細胞生存率が低下し、続いて JNK、p38αおよび Mortalin などのいくつかの生存タンパク質の発現が抑制される事実を明らかにしている。さらに著者は、CL2A-44 処理により一本鎖切断 DNA（SSB）が蓄積し、p53-p21-Rb-E2F1 タンパク質の制御を介して細胞周期の遅延を誘導する事実も明らかにしている。その結果、Mortalin の抑制や ROS の蓄積により、アポトーシス依存カスパーゼカスケード経路を活性化して細胞死が誘導されることを明らかにした。また著者は、Mortalin の過剰発現により、細胞が CL2A-44 抵抗性を示し、PARP-1 の発現誘導を引き起こすことを明らかにした。さらに著者は、ヌードマウスを用いた *in vivo* の解析により、CL2A-44 の腹腔内投与がヌードマウス BALB / c の腫瘍サイズを顕著に減少させたという確たる証拠を得たと述べている。

本論文で著者は、バイオインフォマティクス技術と *in vitro* および *in vivo* の実験成果との組み合わせにより、特定の分子標的の正確な同定と迅速な薬理学的作用解析を可能にし、癌治療法開発のための新しいアプローチ法を確立することが出来たと述べている。

審　査　の　要　旨

本論文は、がん抑制に関わる p53 と DNA 修復に関わる PARP1 の二つの癌関連遺伝子に着目し、１）5-Aza-dC が p53 の誘導剤として働くこと、さらに、２）CL2A-44 が PARP1 の阻害剤として機能することを明らかにし、それぞれの癌抑制作用とそれらの分子機構を解析し、論述したものである。著者は、バイオインフォマティクス技術と *in vitro* および *in vivo* の実験成果とを組み合わせることにより、二つの特定の標的分子を正確に同定し、それらの薬理学的作用の迅速かつ効果的な解析を実現した。本論文は、がん治療薬開発のための新しい研究アプローチ法を生物科学的視点から確立したもので、その功績は極めて大きい。

平成３０年１月３０日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。