

氏 名	わた なべ こう ぞう 渡 辺 幸 造
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2850 号
学位授与の日付	平 成 16 年 11 月 24 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Histone deacetylase 阻害剤は cellular FLIP mRNA の発現量を低下させることによって Death Receptor を介するアポトーシスの誘導にがん細胞を感受性化する
論文調査委員	(主 査) 教 授 永 田 和 宏 教 授 森 和 俊 教 授 大 野 睦 人

論 文 内 容 の 要 旨

Death receptor である Fas を介したアポトーシスは免疫系の調節に重要な機能を有しているだけでなく、細胞障害性 T 細胞や NK 細胞によるがん細胞の除去においても重要な役割を果たしていることが知られており、Fas はがん抑制遺伝子産物とも考えられている。そして、がん由来するいくつかの細胞株は Fas を高発現しているにもかかわらず、Fas を介するアポトーシスに対して耐性を獲得していることが示されており、Fas 刺激への非感受性化と発がんとの関連が示唆されている。一方、Histone deacetylase (HDAC) 阻害剤はがん細胞の増殖と生存を阻害する活性を有することから、抗がん剤としての使用が強く期待されている。

本研究では、Fas 刺激誘導アポトーシスに耐性を示すヒト osteosarcoma に由来するがん細胞株が、HDAC 阻害剤である FR901228 の処理によって Fas の発現量を変化させることなく細胞内の変化が誘導されることによって Fas 刺激に感受性化することを示した。また、この HDAC 阻害剤の処理によって、Fas 誘導アポトーシスに必要な不可欠な caspase-8 の活性化が阻害されること、caspase-8 の活性化を阻害する分子である cellular FLIP の発現量が減少することを示した。さらには、Fas 刺激に感受性を示す HeLa 細胞においても FR901228 処理によって FLIP タンパクの発現減少と Fas 刺激に対する感受性の増大が誘導されることを明らかにした。このような感受性化は Fas 刺激に対してだけでなく、他の Death receptor である DR4 や DR5 のリガンドである TRAIL によって誘導されるアポトーシス（この場合も、caspase-8 の活性化が必須である）においても認められた。

また、Fas 刺激や TRAIL による刺激を介したアポトーシス誘導に耐性を示す上記のヒト osteosarcoma に由来する細胞株において、cellular FLIP 特異的な RNA interference によって FLIP タンパクの発現量を減少させることによって、Fas や TRAIL 刺激によるアポトーシスの誘導に感受性化を引き起こすことを明らかにした。この RNA interference による FLIP タンパクの発現減少は HDAC 阻害剤 FR901228 の処理による減少と同程度であり、FR901228 の処理による Death receptor 誘導アポトーシスへの感受性化は cellular FLIP の発現量減少によることが強く示唆された。さらに、FR901228 処理による FLIP タンパクの減少は FLIP のタンパク質レベルや mRNA レベルでの分解を強めたことによるのではなく、FLIP mRNA の転写を阻害することによっていること、FLIP mRNA の転写活性を減少させる FR901228 の活性は、新規タンパク質の合成には依存していないことを示した。また、このような FLIP mRNA 量の低下は他の HDAC 阻害剤でも同じように誘導された。これらのことから、がん細胞には cellular FLIP の作用によってデスレセプター依存性のアポトーシスに耐性を示しているものが存在すること、HDAC 阻害剤は FLIP mRNA の量を直接減少させることによってこれらのがん細胞をデスレセプターを介するアポトーシスに感受性化することが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

アポトーシスを誘導するレセプター分子 Fas は細胞障害性 T 細胞や NK 細胞によるがん細胞の除去において重要な役割

を果たしていることが知られている。また、Fas と同じファミリーに属するデスレセプター DR4 や DR5 のリガンドである TRAIL は、がん治療に直接利用する試みが行われつつある。そして、いくつかのがん細胞において、これらのデスレセプターを介する刺激への耐性化が認められることは、このような耐性化が発がんの分子機構と密接に関連することを示唆している。一方、histone deacetylase (HDAC) 阻害剤はがん細胞の増殖と生存を阻害することで強い抗がん作用を示すことから、臨床への応用が期待され、HDAC 阻害剤による抗がん作用の分子機構については、現在、世界中で精力的な研究がなされている。HDAC 阻害剤による Fas 刺激への感受性化とその分子機構については chronic lymphocytic leukemia 細胞において、その可能性を示唆する報告がなされてはいるが、その分子機構については明らかにはされていなかった。本研究において、申請者は HDAC 阻害剤の処理で FLIP タンパク質の発現が種々のヒトがん細胞株で減少することを示した。また、FLIP 特異的な RNAi 法を行うことによって HDAC 阻害剤によって誘導される FLIP 発現量の低下が Fas 刺激や TRAIL 刺激への感受性化を引き起こすために十分であることも明らかにした。FLIP 発現量の減少が、がん細胞におけるデスレセプター刺激への感受性を決定づけていることを明解に示した点は、HDAC 阻害剤のがん治療薬としての位置づけ、TRAIL や Fas などのデスレセプターを介したアポトーシスのがん治療への応用の期待の高さを考え合わせると重要な成果である。さらに、FLIP 発現量の調節がユビキチンプロテアソーム経路によるタンパク質レベルでの制御でこれまで説明されてきたことを考えると、HDAC 阻害剤による FLIP の発現量の調節機構が FLIP の転写の抑制に依存していることを初めて示した点は、高く評価できる。また、Fas や TRAIL レセプターを介するアポトーシスシグナルにおける必須の分子 FADD や caspase-8 が、がんや自己免疫疾患のみならず発生においても重要な機能を果たすことを考え合わせると、caspase-8 の活性化を阻害する FLIP の新しい発現制御機構を明らかにしたことは、生物学的にも重要な知見である。

以上のことから、本論文は博士（理学）の学位論文として価値を有するものと認める。また、論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。