

氏 名	コ ン 権	ヨ ン 容	ウ ォ ン 源
学位(専攻分野)	博	士 (医 学)	
学 位 記 番 号	医 博	第 2588 号	
学位授与の日付	平 成 15 年 3 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	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻		
学 位 論 文 題 目	Mechanism of p53-dependent apoptosis induced by 3-methylcholanthrene; Involvement of p53 phosphorylation and p38 MAPK (メチルコラントレンによる p53 依存性のアポトーシスの機構: p53 と p38 MAPK リン酸化の関与)		
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮	教 授 武 藤 誠	教 授 淀 井 淳 司

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】2,3,7,8-四塩化ダイオキシン (TCDD), メチルコラントレン (3-methylcholanthrene; MC) 等の多環性芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)) は, 薬物代謝酵素であるチトクローム P-450 の誘導, 発癌プロモーション活性の他, 多数の毒性を示す。PAHs はダイオキシン受容体 (AhR) との結合がその作用に必須であることが知られているが, その発癌機構の詳細についてはまだ明らかにされていない。これらの化学物質 PAHs は細胞周期停止, アポトーシス (細胞死) を誘導することが近年明らかになっている。そこで, このアポトーシス誘導機構を検討することにより, MC による発癌機構解明することを目的として研究を行った。

【結果および考察】(1) HepG2 細胞で MC はアポトーシスと caspase-3 活性化を誘導した。また, MC は p53 発現誘導と p53 の serine-15 残基のリン酸化も起こした。p53 を欠失している MG63 細胞では MC によるアポトーシス誘導は見られなかったが, p53 を過剰発現することにより caspase-3 活性化と細胞死が観察された。したがって, p53 が MC による caspase-3 活性化とアポトーシス誘導に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

(2) ダイオキシン受容体 (AhR) の antagonist である α -naphthoflavone (ANF) は MC が誘導した①アポトーシス, ② caspase-3 活性化, ③ p53 の serine-15 残基のリン酸化を完全に抑制した。これらのことから MC が誘導したアポトーシスは AhR 依存的事であることが示された。

(3) さらに, MC は p38 MAPK の活性化を誘導した。p38 MAPK の阻害剤である SB203580 を前処理または p38 MAPK の dominant negative mutant を発現させると MC 処理後24時間以後の① p53 活性化, ② p53 serine-15 残基のリン酸化, ③アポトーシスを抑制した。一方, MC 処理後8時間までの p53 活性化と p53 の serine-15 残基のリン酸化は SB203580 では抑制されず, ATM, ATR などの PI-3 kinase の阻害剤である wortmannin によって抑制された。従って, MC による p53 活性化と p53 の serine-15 残基のリン酸化は p38 MAPK 依存性 (後期; 24時間以後) と非依存性 (前期; 8時間以前) の2段階に分けられた。

(4) そこで, 後期の MC による p38 MAPK 活性化が前期の p53 活性化に依存するかどうかを MG63 細胞で検討した。MC は p53 の欠失している MG63 細胞では p38 MAPK 活性化を誘導しなかったが, p53 を過剰発現させた MG63 細胞では p38 MAPK 活性化を誘導した。従って, MC による p38 MAPK の活性化には前期の p53 活性化が必要であると示唆された。

本研究においては環境化学物質 MC によるアポトーシス誘導には p53 と p38 MAPK 両者の2段階の活性化が必要であることを示した。本研究により環境化学物質によるアポトーシス誘導機構の調節が発癌の制御につながる可能性が示唆される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

3-methylcholanthrene (MC), ダイオキシン等の polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) は, 薬物代謝酵素であるチ

トクローム P-450 の誘導，発癌プロモーション活性の他，様々な毒性を示す。その発癌誘導機構の詳細についてはまだ明らかにされていない。これらの化学物質 PAHs は細胞周期停止，アポトーシスを誘導することが近年明らかになっている。

本研究においては，このアポトーシス誘導機構を検討することにより，MC による発癌に対する生体防御機構を解明することを目的とした。

本申請者は human hepatoblastoma cell line HepG2 細胞を用いて，MC がアポトーシスを起こすことを明らかにした。さらに，p53 が MC による caspase-3 活性化とアポトーシス誘導に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

また，MC によるアポトーシスには p53 と p38 MAPK の両者の活性化が必要だということを明らかにした。さらに，MC によるアポトーシス誘導には p53 と p38 MAPK の 2 段階の活性化が必要であることを明らかにした。

以上の研究は環境化学物質によるアポトーシス誘導機構の解明とアポトーシスによる生体防御が破綻する機構の解明によって発癌機構の解明に貢献し，発癌の制御につながる可能性に寄与するところが多い。

したがって，本研究は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，本学位授与申請者は，平成15年 2 月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け，合格と認められる。