

(論文内容の要旨)

チオレドキシン (thioredoxin: TRX) は生体内でユビキタスに発現し、大腸菌からヒトまで保存されている約 12 kDa の酸化還元調節タンパク質である。TRX は遺伝子の発現調節、タンパク質の活性調節などを介して、細胞の増殖や生存に関わり、酸化ストレスや抗ガン剤などから細胞を保護する役割については多くの知見が得られている。しかし、酸化ストレスやその他細胞内・外環境からの種々のストレスに曝されていない場合における、TRX の機能については理解が殆ど進んでいない。そこで、本研究では主に癌由来の細胞を用い、刺激に曝されていない状態で TRX の細胞生存と増殖における役割について解析を行なった。

TRX ノックアウトマウスは胎性致死であることから、乳癌由来の MCF7 細胞と肺癌由来の A549 細胞で RNAi 法を用いて TRX の発現を抑制して細胞の増殖への影響を検討した。RNAi 法によりタンパク質レベルで約 80 % の TRX の発現を抑制出来た。まず、TRX の細胞生存の機能について検討を行なった。TRX ノックダウン細胞では抗がん剤シスプラチン誘導性および、 H_2O_2 誘導性の細胞死が亢進した。一方、刺激に曝さない場合 TRX ノックダウンだけでは細胞死は殆ど誘導されず、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の増加及び JNK のリン酸化も殆ど認められなかった。しかし細胞周期 G_1 期停止が認められた。次に、 G_1 期を制御する分子について発現量を検討したところ、成長/増殖因子によって誘導されるサイクリン D1 のタンパク質及び mRNA の発現が TRX ノックダウンによって抑制された。一方で、p21 や p27 などの G_1 期制御分子については大きな変化は見られなかった。そこで、TRX ノックダウンによるサイクリン D1 の転写抑制の分子機構を検討した。サイクリン D1 のプロモーター領域には転写因子 AP-1 の結合配列があり、TRX ノックダウンによって AP-1 のプロモーターへの結合が抑制された。次に上皮成長因子 (epidermal growth factor: EGF) の刺激により ERK の核移行及び ERK のリン酸化が TRX ノックダウンによって抑制される事を確認した。以上の結果から TRX は細胞増殖を伴う細胞の生存において、ERK1/2/AP-1/サイクリン D1 の経路が働き、細胞周期を回転させるために必要な因子の一つである事が示された。

氏 名	望 月 芳 香
-----	---------

(論文審査の結果の要旨)

チオレドキシン (thioredoxin : TRX) は、酸化還元調節を行い、酸化ストレスからの防御に働く。これまで、TRX が細胞生存や細胞増殖に重要な役割を果たすことが示唆されてきたが、哺乳類細胞において、生理的条件下で TRX が主になどどのような分子機構で細胞生存や増殖を制御しているのかについては明らかではなかった。

申請者は癌細胞由来の A549 及び MCF7 細胞を用いて RNA interference 法により TRX の機能解析を行なった。TRX は酸化的ストレス刺激に対する細胞死の防御に働くことを確認し、さらに、ストレスに曝されない状態では TRX の発現が約 20% 程度あれば顕著な細胞死を起こさないことを示した。一方、申請者は TRX ノックダウンにより細胞周期 G₁ 期の増加と S 期の減少を誘導する事を明らかにした。S 期については、TRX は RNR の活性制御に必要である事を哺乳類細胞において示した。また、G₁ 期については、マイクロアレイ解析において TRX のノックダウンにより変動する遺伝子の中のサイクリン D1 に注目し解析を進め、TRX ノックダウンはサイクリン D1 のプロモーター上の AP-1 結合配列を介してサイクリン D1 の転写レベルを下げる事を明らかにした。さらに TRX ノックダウンは上皮成長因子 (epidermal growth factor : EGF) の刺激による ERK1/2 のリン酸化および核移行を抑制する事を明らかにした。

以上の結果は、TRX による細胞周期の制御において ERK1/2/AP-1/CyclinD1 の経路が関与することを示唆する。今後、TRX による増殖シグナルの制御機構の研究の展開が期待される。

以上より、本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成 21 年 10 月 20 日論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。