

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1091 号	氏 名	北 沢 将 人
論文審査担当者	主 査 小 泉 知 展 副 査 塩 沢 丹 里 ・ 伊 藤 研 一		

### (論文審査の結果の要旨)

本研究はメチル化により ASC の発現が欠失したヒト線維肉腫細胞株 HT1080 を用いた。HT1080 細胞に ASC の遺伝子導入を行い、in vitro、in vivo で増殖、細胞死の解析を行った。ASC が高い細胞密度環境で誘導する細胞死を Annexin+7-AAD 染色で測定し、その条件下で mRNA の発現量をリアルタイム PCR で解析した。ASC が誘導する細胞死のメカニズムをカスパーゼ阻害剤、ネクロシス阻害剤、ギャップ結合阻害剤等の薬剤や p53、p21 およびコネキシン 43 のノックダウンを行い解析した。

また、ASC が誘導するカスパーゼ 9 の活性化は、ウエスタンブロッティングで評価した。さらに、そのカスパーゼ 9 の活性化が細胞密度に依存するか、またギャップ結合阻害剤やコネキシン 43 のノックダウンで変化するかを検討した。

その結果、北沢将人は次の結論を得た。

1. ASC は in vivo、in vitro で共に増殖抑制効果を示した。ヌードマウスの皮下移植で得られた腫瘍組織の Tunnel 染色と K-67 染色の結果、ASC は有意にアポトーシスを増加させたが、細胞周期には有意な差を認めなかった。
2. in vitro で ASC は高い細胞密度環境で細胞死を誘導した。その細胞死はネクロシス阻害剤では抑制されず、汎カスパーゼ阻害剤で有意に抑制された。
3. 高い細胞密度環境で ASC は NF- $\kappa$ b が制御する分子である IL-1 $\beta$  と XIAP の mRNA 量を低下させた。
4. 高い細胞密度環境で ASC が誘導するアポトーシスは、カスパーゼ 1 阻害剤や p53 のノックダウンでは抑制されなかったが、カスパーゼ 9 阻害剤で抑制された。
5. 高い細胞密度で ASC がカスパーゼ 9 を活性化することをウエスタンブロッティングで確認した。このカスパーゼ 9 の活性化はギャップ結合阻害剤やコネキシン 43 のノックダウンで抑制された。

これらの結果より、高い細胞密度環境ではギャップ結合を介した細胞間相互作用により ASC がカスパーゼ 9 を活性化し、アポトーシスを誘導することが明らかとなった。ASC は NF- $\kappa$ B を抑制することにより、XIAP の発現量を低下させ、カスパーゼ 9 の活性化を誘導すると考えられた。ASC は細胞密度のような細胞間相互作用や環境を認識し、腫瘍細胞における細胞競合を担っている分子として新たな癌治療の標的分子となる可能性が示唆された。

主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。