

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	境 澤 隆 夫
論文審査担当者	主 査 樋 口 京 一 副 査 小 泉 知 展 ・ 塩 沢 丹 里
論文題目	Potential Roles of ASC, a Proapoptotic Protein, for Determining the Cisplatin Susceptibility of Lung Cancer Cells (アポトーシス促進性蛋白質である ASC は肺癌細胞のシスプラチン感受性を決定する役割を担う)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】肺癌は予後不良な癌腫の一つで、進行症例には薬物治療としてシスプラチンを基盤とした化学療法が考慮される。しかし、使用中に薬剤耐性を示すことが知られており、耐性化の克服が課題となっている。一方、Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) は自然免疫におけるインフラマソームの構成蛋白質の一つとして知られている。また、ASC はアポトーシスシグナル系に関与し、細胞内で凝集する蛋白質として分子腫瘍学教室より報告された。肺癌をはじめ種々の悪性腫瘍細胞内では、メチル化による ASC 遺伝子の発現低下が報告されているが、その生物学的意義については十分解明されていない。今回、我々は肺癌における ASC の役割について詳細な解析を行った。</p> <p>【対象と方法】がん細胞株のデータベース検索 (Cancer Cell Line Encyclopedia) により、肺癌細胞株の中で A549 細胞株の ASC 発現が比較的高いこと (186 細胞株中 15 番目) が判明した。そこで A549 細胞株においてレトロウイルスベクターを用いて shRNA を導入して ASC をノックダウンし、増殖・遊走・浸潤能の解析を行った。更に、ASC ノックダウン細胞の各種制癌剤に対する感受性を評価した。</p> <p>【結果】ASC をノックダウンした A549 細胞株は、そのコントロール細胞と比較して、細胞増殖能、コロニー形成能、遊走能、浸潤能が亢進していることが観察された。また、ASC ノックダウン細胞を各種制癌剤で処理したところ、5-FU とタキサン系抗がん剤であるパクリタキセルに対しては作用に変化を認めなかったが、シスプラチンに対して ASC ノックダウン細胞が抵抗性を示すことが分かった。シスプラチン耐性化の機序について、過去に報告されている遺伝子群 (NRF2, PPARGC1β, ABCB1, ERCC1) についてリアルタイム PCR 法で mRNA の発現を調べたところ、ASC ノックダウン細胞とコントロール細胞の間に有意な差を認めなかった。次に、ASC がシスプラチンのアポトーシスシグナル伝達系のどの部位で作用しているのかを解析したところ、ウエスタンブロット法により抗アポトーシス機能を持つミトコンドリア蛋白質 Bcl-2 の発現が亢進していることが明らかになった。そこで Bcl-2 特異的阻害剤である ABT-199 で A549 細胞を処理したところ、ASC ノックダウン細胞の増殖能が抑制された。更に、その他のシグナル伝達経路について解析した結果、ASC ノックダウン細胞では Src 蛋白質のリン酸化が亢進していることが確認された。そこで Src リン酸化阻害剤であるダサチニブで A549 細胞を処理すると、ASC ノックダウン細胞の浸潤能が抑制された。また ABT-199 とダサチニブを併用すると、各々の単独処理よりも更に ASC ノックダウン細胞の細胞増殖の抑制が可能であることが示された。</p> <p>【考察】肺癌細胞株における ASC の発現低下は、悪性形質の獲得とシスプラチン耐性化をもたらし、Bcl-2 の発現亢進と Src のリン酸化により引き起こされているものと考えられた。ASC ノックダウン細胞における Bcl-2 阻害剤の増殖抑制効果と Src リン酸化阻害剤の浸潤抑制効果、さらにそれらの併用による強い増殖抑制効果の事実は、シスプラチンに耐性化した肺癌細胞に対する新規治療法の可能性を示唆するものと考えられた。</p>