

学位請求論文の内容の要旨

領 域	放射線技術科学	分 野	
氏 名	佐藤 嘉晃		
(論文題目) ヒト肺腺癌細胞の放射線応答制御におけるミトコンドリア関連因子の役割に関する研究			
主 査	細川 洋一郎		
副 査	三浦 富智		
副 査	敦賀 英知		
副 査	吉野 浩教		
【序論】 <p>ミトコンドリアは酸化的リン酸化, 細胞死や免疫応答などの多くの細胞機能において重要な役割を担う細胞小器官である. ミトコンドリアは, 独自のDNAやリボソームを有しており, また融合と分裂を繰り返している. これらの特徴はウイルス感染や放射線などのストレス応答において自身の機能を維持するために重要な役割を果たしている.</p> <p>Retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) 様受容体 (RIG-I-like receptors: RLR) は病原体特有の分子を認識するパターン認識受容体の一種で, 細胞質のウイルスセンサーとして機能する. RLRは二本鎖RNAなどのウイルス由来核酸を認識すると, ミトコンドリア上に発現するアダプター分子を介して抗ウイルス応答を誘導する. さらに, 近年ではRLRによる抗腫瘍免疫活性および細胞死誘導作用に着目した癌治療戦略が研究されている. 所属研究室ではこれまでに, RLR刺激因子である合成二本鎖RNAのPolyinosinic-polycytidylic acid-high molecular weight/LyoVec™ (Poly(I:C)) がヒト肺腺癌細胞に対して放射線誘発細胞死の増強や放射線増感効果を誘導することを報告したが¹⁾, RLR刺激因子による放射線応答制御機構の詳細は不明であった. そこで本論文の第一章では, RLR刺激因子によるヒト肺腺癌細胞の放射線応答制御機構におけるミトコンドリア関連因子の役割について解析した. さらに第二章では, 第一章で見出したミトコンドリアリボソームタンパク質 Death-associated protein 3 (DAP3)によるヒト肺腺癌細胞の放射線抵抗性制御の機構解明を目指した.</p>			

(注) 論文題目が外国語の場合は, 和訳を付すこと.

【細則様式第 1 - 2 号続き】

【第一章の結果および結論】

はじめにミトコンドリア融合および分裂因子とDAP3のタンパク質発現を解析したところ、Poly(I:C)処理したヒト肺腺癌細胞A549ではこれらタンパク質の発現が減少していることを見出した。そこで、RNA干渉法により調製した各タンパク質発現抑制細胞を用いて実験を行ったところ、(i) DAP3がヒト肺腺癌細胞(A549とH1299)の放射線抵抗性に関与していること、(ii) DAP3の発現抑制細胞では放射線による細胞死が増加し、その結果Poly(I:C)による放射線誘発細胞死増強効果が減弱することが明らかとなった。さらに、mRNA及びタンパク質発現解析から、Poly(I:C)はmRNAの翻訳抑制に関わるeukaryotic initiation factor-2 α のリン酸化を促進させることでDAP3のタンパク質発現を抑制することが示唆された。

以上の結果より、RLR刺激因子Poly(I:C)はDAP3のタンパク質発現を減少させることでヒト肺腺癌細胞の放射線応答を制御していることが示唆された。

【第二章の結果および結論】

DAP3は放射線高感受性を示すataxia-telangiectasia-mutated欠損細胞に放射線抵抗性を付与する因子としてクローニングされたが²⁾、DAP3を介した放射線抵抗性制御機構は未解明である。放射線抵抗性に関わる細胞周期およびDNA損傷応答制御とDAP3との関連について解析した結果、(i) DAP3の発現を抑制したヒト肺腺癌細胞では照射後のG2/M期停止が抑制されること、(ii) DAP3の発現抑制によりG2/M期の制御因子cdc2のリン酸化とその上流の制御因子checkpoint kinase 1 (chk1) およびchk2の照射後のリン酸化の亢進が減少することが明らかになった。そこで照射後のG2/M期停止に着目して解析を進めた結果、(i) 照射後のG2/M期停止にはchk1が重要であること、(ii) chk1阻害剤で処理したH1299は放射線高感受性を示すこと、(iii) A549に関しては、chk1阻害剤によるG2/M期停止の解除に加え、chk2阻害剤により放射線抵抗性因子p21の照射後の発現増加を抑制した場合に放射線感受性が高まることが明らかになった。

以上の結果より、DAP3はchk1を介して放射線誘発G2/M期停止を誘導することでH1299の放射線抵抗性を制御していることが示唆された。一方、A549に対してはDAP3がchk1とchk2を介したイベントを通して放射線抵抗性を制御している可能性が示唆された。

【結論】

本研究により, RLR刺激因子によるヒト肺腺癌細胞の放射線応答制御にDAP3が関わっていること, そしてDAP3が放射線照射後の細胞周期制御等を介してヒト肺腺癌の放射線抵抗性を制御していることが明らかとなった. 肺癌は世界的に死亡原因の上位に位置し, 主要な治療法の1つである放射線治療に対する抵抗性が予後不良の原因とされている. したがって, ミトコンドリア関連因子によるヒト肺腺癌細胞の放射線抵抗性機構の一端を明らかにした本研究成果は放射線抵抗性機構のさらなる理解と効果的な癌放射線治療戦略の開発に貢献できると考えられる.

【参考文献】

- (1) Yoshino H et al. *Oncol Lett*, 15(14):4697-4705, 2018.
- (2) Henning K.A. *Ph.D. Thesis*. Stanford University; Palo Alto, 1992.

【細則様式第 1 - 2 号続き】

学位論文のもととなる研究成果としての筆頭著者原著

論文題目	DAP3 Is Involved in Modulation of Cellular Radiation Response by RIG-I-Like Receptor Agonist in Human Lung Adenocarcinoma Cells
著者名	Yoshiaki Sato, Hironori Yoshino, Ikuo Kashiwakura, Eichi Tsuruga
掲載学術誌名	International Journal of Molecular Sciences
巻, 号, 項	22 巻 1 号 420 項
掲載年月日	2021 年 1 月