

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 佐藤 聡   |
| 授与した学位  | 博士   |
| 専攻分野の名称 | 薬学   |
| 学位記授与番号 | 博甲第 3609 号   |
| 学位授与の日付 | 平成 20 年 3 月 25 日   |
| 学位授与の要件 | 博士の学位論文提出者<br>(学位規則第 5 条第 1 項該当)   |
| 学位論文の題目 | 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUdR)が誘導する細胞死分子機構の解明<br>-Necrosis と Apoptosis の誘導機構について- |
| 論文審査委員  | 教授 佐々木 健二 教授 綿矢 有佑<br>准教授 根岸 友恵 准教授 御船 正樹  |

### 学位論文内容の要旨

細胞死はその形態学的な特徴から necrosis と apoptosis の二つに分けられる。制御された細胞死である apoptosis は活発に研究が行われその複雑な分子機構は明らかにされつつある。しかし、apoptosis に比べると necrosis の研究は進んでいないのが現状である。

当研究室ではチミジル酸合成酵素阻害剤である 5-fluoro-2'-deoxyuridine (FUdR) を作用させると necrosis を起こすマウス乳がん由来 FM3A 細胞野生株である F28-7 株と、この細胞から派生した細胞で apoptosis を起こす形質の異なる細胞 F28-7-A 株を有している。また、これまでに、F28-7 株に Heat shock protein 90 の阻害剤である geldanamycin と FUdR を同時併用すると apoptosis が起こることを明らかにしている。したがって、FUdR が誘導する necrosis と apoptosis の分子機構を明らかにするため、これら両細胞株で mRNA またはタンパク質レベルで発現量の異なる因子をトランスクリプトーム解析とプロテオーム解析を行い網羅的に調べた。

トランスクリプトーム解析の結果、薬剤非作用時の F28-7 株と F28-7-A 株ではマウス既知遺伝子のおよそ 1%にあたる 148 遺伝子の発現が異なることが明らかとなった。また、FUdR 作用後に誘導される necrosis と apoptosis ではそれぞれ異なる遺伝子の発現が変動しており、FUdR を作用させた F28-7 株でのみ発現が変動する遺伝子として細胞死や転写に関与する 56 遺伝子を見出した。FUdR が誘導する necrosis におけるこれら遺伝子の役割を調べることで necrosis と apoptosis の分子機構を解き明かす知見が得られると考える。

プロテオーム解析の結果、薬剤非作用時と FUdR 作用後の両条件下において F28-7-A 株に比べて F28-7 株で発現が増加しており、F28-7 株に geldanamycin を併用すると減少するタンパク質として lamin-B1 を見出した。そこで、siRNA を用いて F28-7 株の lamin-B1 タンパク質を F28-7-A 株の発現レベルと同程度まで knockdown した。Lamin-B1 を knockdown した F28-7 株に FUdR を作用させると apoptosis に特徴的な形態変化を示したことから、lamin-B1 は FUdR が誘導する necrosis と apoptosis を制御している可能性が示唆された。

本研究により得られた知見は、どのような細胞内の環境がどのようにして necrosis と apoptosis という 2 つの形態学的に異なる細胞死を導くのか、その謎を解く重要な鍵になると思われる。さらに、本研究で見出した lamin-B1 を含む因子の FUdR が誘導する necrosis と apoptosis における役割を詳細に調べることで necrosis と apoptosis の分子機構を明らかにできると考える。

## 論文審査結果の要旨

チミジル酸合成酵素阻害剤である 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUdR) を作用させると necrosis を起こすマウス乳がん由来 FM3A 細胞野生株である F28-7 株と、F28-7 株から派生した形質の異なる細胞で apoptosis を起こす F28-7-A 株を細胞死の研究モデルとして necrosis と apoptosis の誘導機構の研究を行っている。F28-7 株は FUdR を作用させると necrosis を起こし、F28-7-A 株は apoptosis を起こす。また、FUdR を作用させると necrosis を起こす F28-7 株に HSP90 の特異的阻害剤である geldanamycin と FUdR を同時併用すると apoptosis が起こることを明らかにしている。したがって、FUdR が誘導する necrosis と apoptosis を制御する因子を明らかにするため、これら両細胞株で mRNA またはタンパク質レベルで発現量の異なる因子を二次元電気泳動法と MALDI-TOF/MS 及び LC-MS/MS を用いたプロテオーム解析と GeneChip Mouse Expression set 430 を用いたトランスクリプトーム解析を行い調べた。

トランスクリプトーム解析の結果から薬剤非作用時の F28-7 株と F28-7-A 株ではマウス既知遺伝子のおよそ 1%にあたる 148 遺伝子の発現が異なることを明らかにしている。また、FUdR 作用後に誘導される necrosis と apoptosis ではそれぞれ異なる遺伝子の発現が変動しており、FUdR を作用させた F28-7 株でのみ発現が変動する遺伝子として細胞死や転写に関与する 56 遺伝子を見出した。

プロテオーム解析の結果、薬剤非作用時と FUdR 作用後の両条件下において F28-7-A 株に比べて F28-7 株で発現が増加しており、F28-7 株に geldanamycin を併用すると減少するタンパク質として核膜の構成タンパク質である lamin-B1 を見出している。さらに、F28-7 株の lamin-B1 タンパク質を F28-7-A 株の発現レベルと同程度まで siRNA を用いて knockdown し、この lamin-B1 を knockdown した F28-7 株に FUdR を作用させると apoptosis が起こることを報告している。

上記の論文は学位（博士）論文の審査基準を満たしており、博士論文に値する。