

論文審査の要旨

報告番号	総研第 582号	学位申請者	高 裕子	
審査委員	主 査	中村 典史	学 位	博士 (歯学)
	副 査	橋口 照人	副 査	齋藤 充
	副 査	犬童 寛子	副 査	皇加 知宏

Mitochondrial dysfunction promotes aquaporin expression that controls hydrogen peroxide permeability and ferroptosis

(ミトコンドリア機能障害は過酸化水素の膜透過性とフェロトーシスを制御するアクアポリンの発現を促進させる)

がん治療において、放射線治療や一部の化学療法では、細胞内の活性酸素種 (ROS) を増大させることでがん細胞を死に至らしめるという機序が知られている。従って、がん細胞における ROS 応答を明らかにすることはがん克服にとって非常に重要である。しかしながら、その分子機構については未だ不明な点が多い。そこで学位申請者は、ROS によって誘導されるがん細胞死のメカニズムについて、ROS の一種である過酸化水素 (H_2O_2) に対して感受性を示す、ミトコンドリア DNA が欠失した細胞 (p^0 細胞) を用いてその解析を行った。

本研究では、1) H_2O_2 処理による細胞死の種類について、アポトーシス及びフェロトーシスマーカーによるフローサイトメトリー解析と蛍光顕微鏡観察および定量 PCR、 Fe^{2+} 量と鉄キレート剤の関与についての検討、2) H_2O_2 に対して透過性をもつアクアポリン (AQP) 3, 5, 8 の関与について、これらの発現を免疫染色とウエスタンブロット、また、細胞膜に存在し、 H_2O_2 を産生することが明らかとなっている NADPH oxidase (NOX) 2 と AQP 3, 5, 8 との相互作用を免疫沈降、AQP 3, 5, 8 の siRNA を用いた遺伝子発現抑制による H_2O_2 に対する細胞生存率への影響についての検討、3) ミトコンドリアの関与について、ミトコンドリア移植による影響とミトコンドリア機能を司るタンパク質であるプロヒピチン (PHB) 2 の発現の検討、PHB2 siRNA による AQPs の遺伝子発現変化についての検討を行った。

その結果、以下の知見が得られた。

- 1) p^0 細胞では H_2O_2 処理後 3 時間でフェロトーシスマーカーの充進が検出された。また、 p^0 細胞では細胞内の Fe^{2+} 量が増大しており、事前に鉄キレート薬処理を行うと、 H_2O_2 処理による細胞死が抑制された。
- 2) p^0 細胞では、AQP 3, 5, 8 の発現が充進しており、NOX2 と直接結合していることが示された。 p^0 細胞で AQP 3, 5, 8 の発現を抑制すると、 H_2O_2 処理後の細胞内 H_2O_2 量が減少し、細胞死が抑制された。
- 3) p^0 細胞に正常細胞由来のミトコンドリアを移植すると H_2O_2 処理後の細胞死が抑制された。PHB2 の発現は p^0 細胞で減少していたが、ミトコンドリア移植でその発現量は回復し、親株で PHB2 の発現抑制を行うと AQP 3, 5, 8 の発現が充進した。

これらの結果から、ミトコンドリア機能を司る PHB2 が H_2O_2 を透過する AQP 3, 5, 8 の発現を抑制しており、また、ミトコンドリア機能障害により細胞内 Fe^{2+} が増大するため、 p^0 細胞においては、鉄誘導性の細胞膜の脂質過酸化を伴う細胞死であるフェロトーシスが惹起されることが示された。

本研究は、ミトコンドリア機能を低下させることにより、がん細胞に効率よくフェロトーシスを引き起こすことが出来ることを示したものであり、がん克服に向けて非常に重要な知見を提供している。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。