



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウス腫瘍細胞のネクロプトーシス誘導経路に関する研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	竹村, 龍
Description	配架番号 : 2158
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11676号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58978
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryo_Takemura_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 竹村 龍

主査 教 授 廣瀬 哲郎
審査担当者 副査 教 授 瀬谷 司
副査 教 授 志田 壽利
副査 准教授 森松 組子

学 位 論 文 題 名

マウス腫瘍細胞のネクロプトーシス誘導経路に関する研究
(PolyI:C-induced necroptosis is TLR3/RIP3-dependent in mouse tumor cell lines)

細胞死は、感染や炎症を伴う悪性腫瘍においてしばしば起こり、その結果生じた死細胞から放出される内容物が、腫瘍周囲の免疫系や腫瘍環境を調節することが近年指摘されている。こうした生体のプログラムされた細胞死の様式には、よく知られているアポトーシス以外に、カスパーゼに依存せずかつ RIP キナーゼ依存した細胞死経路であるネクロプトーシスが近年明らかにされている。ネクロプトーシスを誘導するリガンドは複数知られているが、その誘導経路や生理機能は十分解明されていない現状である。本論文では、腫瘍細胞において、二本鎖 RNA センサーである TLR3 を介したネクロプトーシス経路の誘導機構を解析した。まず TLR3 リガンドである polyIC とカスパーゼ阻害剤 zVAD によってネクロプトーシスが誘導される細胞株を選別した。その細胞株 CT26 を用いて polyIC による誘導に関わる候補因子の RNAi 解析を実施し、ネクロプトーシス誘導経路に関わる因子群 TLR3, TICAM1, RIP3 を同定した。さらに生化学的、細胞生物学的解析によって、polyIC シグナルによって、RIP3-TICAM1 相互作用が増強されること、その際に細胞内活性酸素種が増大することを明らかにした。またネクロプトーシスを起こす細胞と起こさない細胞株の違いを検討し、ネクロプトーシスを起こさない細胞株では、多くの場合 RIP3 キナーゼの発現が低く抑えられていること、さらに polyIC シグナルによっても RIP3-TICAM1 相互作用の増強が認められないことを明らかにした。こうした分子メカニズムを踏まえ、最後に CT26 細胞担癌マウスに対して polyIC を作用させたところ、抗腫瘍効果が検出され、この効果は NK 細胞と CTL

阻害抗体によって消失することが明らかになった。以上のことから、本論文で腫瘍細胞内における polyIC シグナルによって誘導されるネクロプトーシス経路が抗腫瘍効果を発揮するという新たな知見が得られた。

学位審査会では、本論文に対し主査、副査全員から総じて高い評価がなされた。まず副査の志田教授から、zVAD の作用効果や抗腫瘍薬剤としての有用性についての質問がなされ、この薬剤がカスパーゼ 8 を阻害することによってアポトーシス経路が抑えられ、このことがネクロプトーシスの誘導に必要であること、また zVAD はネクロプトーシス誘導条件下で抗腫瘍能を誘導できる有用な薬剤と考えられる可能性が説明された。またこの経路を実際に治療技術として用いるために問題となる polyIC による過剰な炎症を誘導しないような技術開発の重要性が申請者から補足された。次に副査の森松准教授から、ネクロプトーシスを誘導できる癌細胞が限られているという問題点が指摘され、今後の課題の一つであることが確認された。また正常細胞への影響についても質問があり、マウス実験系では明瞭な影響は認められないことが回答された。次に主査である廣瀬教授から、生体内でのネクロプトーシスの役割についての質問があり、ウィルス感染時のアポトーシス経路のバックアップとして働くこと、脳梗塞や心筋梗塞下で誘導されることなどが回答された。また RIP3-TICAM1 相互作用の細胞特異性について質問があり、この相互作用に関わる他の因子の存在の可能性が回答された。最後に、直接の指導教官である瀬谷教授から、ネクロプトーシス誘導のモデル系である TNF α における RIP3 経路の役割や腫瘍微小空間における複合的な腫瘍増殖能を決定する因子についての説明が求められ、それに対する現在の研究状況と今後の方向性として重要であることなどが説明された。

本論文は、核酸リガンド (polyIC) によって誘導されたネクロプトーシスの誘導経路を明らかにし、この経路による抗腫瘍効果を用いた治療技術のための新しい基盤知見となりうる優れた研究成果であると結論できる。このことから、審査員一同は本研究成果を評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士 (医学) の学位を取得する資格を有すると判定した。