

論文内容の要旨

論文提出者氏名 北川 真希

論文題目

Tumor necrosis factor- α -induced apoptosis of gastric cancer MKN28 cells: accelerated degradation of the inhibitor of apoptosis family members

論文内容の要旨

TNF- α は炎症や細胞の生存、アポトーシスなど多彩な作用を有するサイトカインであり、癌の増殖やそれに伴う炎症に密接に関与している。多くの細胞において、TNF- α は単独ではアポトーシスを誘導せず、cycloheximide (CHX, タンパク合成阻害剤) やNF- κ B阻害剤, Smac mimeticsを併用することでアポトーシスを誘導する。これはTNF- α 単独では、NF- κ Bの活性化を介して、IAPファミリーやc-FLIPなどの抗アポトーシス蛋白が誘導され、caspase-8の活性化が阻害されるためとされている。本研究では、ヒト胃癌細胞株MKN28細胞を用いて、TNF- α /CHX併用によりアポトーシスを誘導した際のIAPファミリーの動態について解析を行った。その結果、NF- κ Bにより誘導される抗アポトーシス蛋白の合成阻害だけではなく、抗アポトーシス蛋白の分解促進がアポトーシスの誘導に関与していることが示唆された。

IAPファミリー(cIAP1, cIAP2, XIAP, survivin)はTNF- α 単独, CHX単独, そしてTNF- α /CHX併用の6時間処理に対して、それぞれ特徴的な変化を示した。cIAP1の発現量はTNF- α /CHXで減少したが、TNF- α 単独またはCHX単独では変化しなかった。cIAP2はTNF- α 単独で著明に増加したが、CHX単独やTNF- α /CHXでは変化がなかった。XIAPはCHX単独で減少しTNF- α /CHXでさらに減少した。SurvivinはCHX単独で減少したが、TNF- α /CHXでさらなる減少は認めなかった。活性型caspase-8および-3はTNF- α /CHXのときのみ認められ、TNF- α 単独またはCHX単独では検出されなかった。これは、アポトーシス解析の結果と矛盾しなかった。これらの結果は、MKN28細胞において、XIAPとsurvivinがturnoverの速い蛋白であること、そしてCHXによりXIAPとsurvivinが減少するだけではアポトーシスが誘導されないことを示している。

TNF- α によるcIAP2の誘導は、BMS-345541 (NF- κ B阻害剤)やCHXにより阻害された。したがって、cIAP2はTNF- α によるNF- κ Bの活性化を介して誘導される蛋白であることが再確認された。また、BMS-345541単独の処理でcIAP2の発現量が低下したことから、MKN28細胞において、NF- κ Bが恒常的に活性化していることが示唆された。

TNF- α とBMS-345541の併用でcaspase-8および-3の活性化およびアポトーシスを認めた。

この結果は、NF- κ Bの活性化で誘導される抗アポトーシス蛋白がTNF- α によるアポトーシスを抑制していることを示している。cIAP2はそのような抗アポトーシス蛋白の一つと考えられる。しかし、TNF- α とBMS-345541の併用で誘導されるアポトーシスはTNF- α /CHXで誘導されるものと比較して有意に少なく、TNF- α /CHXによるアポトーシスには、抗アポトーシス蛋白の誘導の阻害以外の機構が関与していることを示唆している。cIAP1, XIAP, およびsurvivinの発現量はTNF- α とBMS-345541の併用で変化が見られなかった。したがって、cIAP1, XIAP, およびsurvivinが、TNF- α /CHXで誘導されるアポトーシスの促進に寄与している可能性が考えられる。

TNF- α /CHXによるアポトーシスはz-VAD-fmk (caspase阻害剤), MG132およびepoxomicin (プロテアソーム阻害剤)により有意に抑制された。蛋白レベルにおいても、TNF- α /CHXによるcaspase-3の活性化はz-VAD-fmk, MG132, およびepoxomicinにより阻害された。TNF- α /CHXによるcIAP1, XIAP, およびsurvivinの発現量の低下は、MG132やepoxomicinの前処理により阻害されたが、z-VAD-fmkでは変化が見られなかった。したがって、TNF- α /CHXにより、cIAP1, XIAP, およびsurvivinはプロテアソームにより分解され、caspase-8および-3の活性化に密接に関与していることが示唆された。

これらの結果より、TNF- α はCHX存在下において、cIAP1およびXIAPの分解を促進している可能性が示唆される。つまり、TNF- α による抗アポトーシス蛋白の分解は、CHXに感受性のある分子により阻害されていると考えられる。多くの癌には炎症と局所のTNF- α の産生が随伴している。したがって、まだ特定されていないが、TNF- α /CHXによるアポトーシスに関わるCHX感受性の分子は、癌治療において分子標的となりうると思われる。