

## 審査の結果の要旨

氏名 劉長青

アポトーシスにおける重要なシグナル伝達経路としては、主に p53 と SAPK/JNK 経路が関与している。本研究は、p53 null の U937 細胞を用いて SAPK/JNK 経路の役割を中心に、温熱誘発アポトーシスおよび温熱耐性のメカニズムを解明しようとしたものである。

1. U937 細胞においては、44°C 温熱処理による細胞死はミトコンドリア膜電位低下、Procaspase-9 と-7 の切断、及び核の凝縮・断片化といったアポトーシスの特徴を示した。この過程の初期に持続的な SAPK/JNK, p38 MAPK の活性化が見られた。
2. 温熱耐性を獲得した細胞においては、温熱誘発 Procaspase の切断及び細胞死が顕著に阻害された。さらに、Procaspase-7 の切断を指標にし、温熱耐性の獲得・持続・減衰のプロセスを明らかにした。この温熱耐性時には、温熱処理による SAPK/JNK や p38 MAPK のリン酸化が著しく抑制された。
3. 温熱耐性を獲得過程においては、Hsps、とくに Hsp70 の蓄積と SAPK/JNK、p38 MAPK 活性化の低下と並行して起こることから、Hsp70 は SAPK/JNK、p38 MAPK の活性化を抑制する可能性が考えられる。また、温熱耐性を獲得した細胞では、温熱誘発 SAPK/JNK、p38 MAPK のリン酸化が低下していることが耐性の要因の一つとなっていると示唆された。
4. p38 MAPK 特異的阻害剤 SB203580 存在下に、温熱処理すると p38 MAPK 活性化は完全に抑制されたが、Procaspase-9、-7 の切断および細胞死は阻害されなかった。SB203580 前処理による温熱誘発 SAPK/JNK のリン酸化の程度に顕著な抑制効果が見られなかった。

5. D609 はセラミド合成に関わる酵素の一つの酸性スフィンゴミエリナーゼ (aSMase) 阻害剤である。D609 前処理で、温熱誘発細胞死、Procaspase 及び PARP の切断が有意に抑制された。同時に、温熱処理による SAPK/JNK の活性化も著しく低下していることを初めて明らかにした。D609 の前処理は p38 MAPK とその下流の Hsp27 のリン酸化には顕著な影響を示さなかった。Hsp70 の蓄積にも影響を示さなかった。
6. UV 照射によるアポトーシスには SAPK/JNK と p38 MAPK の活性化が重要であることが報告されたが、温熱誘発細胞死には p38 MAPK 経路が関与せず、SAPK/JNK 経路は重要なシグナル伝達経路である。温熱耐性の獲得には SAPK/JNK 活性の減弱が関わると思われる。

本論文は、温熱耐性という温熱療法の臨床応用にあたり主要な障害といわれてきた現象を新たなアポトーシスの観点から取り上げ、温熱耐性状態の細胞における温熱誘発 SAPK/JNK 活性化の低下とアポトーシス抵抗性との相関を見出した。本研究における結果は温熱耐性及び温熱誘発細胞死の機構の解明に重要な知見を与えられ、学位の授与に値するものと思われる。