

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 北 中 千 史

本研究はこれまで全く解明されていなかった神経芽腫の自然退縮に関わる細胞死の性状・メカニズムを明らかにするため、神経芽腫患者より得られた腫瘍検体に対する免疫組織化学的解析ならびに培養神経芽腫細胞に対する遺伝子導入実験などを行っており、下記のような結果を得ている。

1. 神経芽腫の腫瘍標本に対して抗 Ras 抗体による免疫染色を行い、Ras 蛋白質を高発現する腫瘍細胞が変性を起こしていることを示した。また TUNEL アッセイや抗活性化型カスパーゼ 3 特異抗体による免疫染色の結果、変性腫瘍細胞がアポトーシスとは異なった細胞死をきたしていることが判明した。さらに電子顕微鏡解析によってこの細胞死が autophagic degeneration と呼ばれる細胞死としての特徴を示すことを明らかにした。また、Ras の高発現を伴った変性腫瘍細胞領域の出現頻度は自然退縮の起こしやすさと相関関係があることが示された。
2. 培養ヒト神経芽腫細胞に対して遺伝子導入実験を行い、一過性あるいは誘導的に Ras 蛋白質を発現させることにより細胞死が誘導されることを示した。また、核染色、TUNEL アッセイ、電子顕微鏡による観察等により、Ras 発現によって誘導される細胞死がアポトーシスとしての特徴的所見を示さず、autophagic degeneration の特徴を有していることを明らかにした。さらにこのような細胞死におけるカスパーゼの活性化状態、カスパーゼ依存性を検討することにより、Ras により誘導される細胞死がその制御にカスパーゼの関与しない、アポトーシスとは異なった制御機構をもつ細胞死であることが確認された。
3. Ras とともに神経芽腫の予後良好因子として知られる神経栄養因子受容体 TrkA の高発現が Ras 依存的細胞死に対してどのような影響を及ぼすかを調べるため、培養神

神経芽腫細胞に対して外来的に Ras を発現させた状態・発現させない状態のそれぞれについて TrkA の遺伝子導入実験を行った。その結果 Ras を外来的に発現させていない状態では神経分化が誘導されたのに対して、Ras を発現させた状態では TrkA は Ras による細胞死誘導を増強した。この結果から、TrkA が神経分化誘導のみならず、Ras による細胞死誘導の増強を介して腫瘍の縮小、ひいては良好な予後に寄与している可能性が示唆された。

これまで神経芽腫の自然退縮に関わる細胞死はアポトーシスであると一般的に信じられてきたが、このような考え方を裏付ける実験データは得られておらず、自然退縮のメカニズムについては殆ど未知に等しい状態であった。これに対して本研究の結果は、Ras の高発現が神経芽腫細胞に対して autophagic degeneration の特徴を示し、アポトーシスとは形態・制御機構とも異なる細胞死を誘導していること、ならびにそのような細胞死が神経芽腫の自然退縮に寄与している可能性を初めて示したもので、神経芽腫の生物学的特性を理解するうえで重要な貢献をなすものである。また、本研究の結果は腫瘍抑制に関わる細胞自殺機構がアポトーシス以外にも存在することを初めて示した点において腫瘍学全般に対する貢献も顕著であり、したがって学位の授与に値するものと考えられる。