

審査の結果の要旨

氏名 大田 秀隆

酵母 Sir2 (Silent information regulator 2) のオルソログである、ヒト Sirt1 (Sirtuin 1) は NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide) 依存性蛋白脱アセチル化酵素である。Sirt1 は NAD⁺ を用いその脱アセチル化活性を示し、様々な生物学的分子と相互作用することにより、ストレス反応、細胞周期、アポトーシス、代謝、そして寿命の制御を行っている。しかしながら、Sirt1 分子が寿命に対して、その他の Sirt ファミリーの作用を介しているのか、あるいは他の重要な分子を介して影響するのかは未だわかっていない。本研究では、我々は、Sirt1 の特異的阻害薬であるサーチノール、スプリトマイシン、M15、Sirt1 dominant negative 体や Sirt1 siRNA を用いた Sirt1 阻害作用により以下の結果を得ている。

1. ヒト癌細胞 (MCF-7、H1299 細胞) において、G1 期細胞増殖抑制効果を示すことを証明した。またこれらヒト癌細胞は、Sirt1 阻害により、細胞老化様形質を伴っていることを示した。今回、細胞老化様形質を評価するために、細胞老化関連βガラクトシダーゼ活性、PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type-1) の過剰発現、成長因子である IGF-I (insulin-like growth factor-I)、EGF (epidermal growth factor) に対する MAPK (mitogen-activated protein kinase) を介した c-jun N-terminal キナーゼの活性化の欠如、という3つの代表的な細胞老化のマーカーを用いた。近年、細胞老化様増殖抑制の誘導は抗癌作用につながるという報告がなされている。

2. Sirt1 の主な標的分子に癌抑制遺伝子である p53 蛋白がある。今回、Sirt1 の阻害により、p53 蛋白のアセチル化は観察されなかった。p53 蛋白の発現自体も Sirt1 の阻害では増減が観察されなかった。またアンチセンスを用いた実験においても、p53 蛋白を抑制するとシスプラチンでは増殖が見られるのに対して、サーチノールでは細胞増殖に全く影響を及ぼさなかった。以上の結果より、今回の結果においては、Sirt1 阻害による細胞増殖抑制には p53 分子は主な役割を演じてはいないと結論された。

3. ATM (ataxia-telangiectasia mutated gene) は、早老症の原因遺伝子として報告されているが、この ATM 分子が放射線刺激により Chk2、cdc25A/B/C、cdc2 等のリン酸化を経て細胞周期を制御していることがわかっている。今回我々は、その ATM-Chk2 シグナル経路が、ヒト正常線維芽細胞やヒト癌細胞において、Sirt1 の阻害により活性化されることを示した。またそれに伴い、その下流の Rb 蛋白 (retinoblastoma protein) の脱リン酸化、そして p27 分子の発現上昇を伴うことも示した。また ATM 1981 セリンをアラニンへ置換し、機能活性を喪失した変異体 (kinase dead) を過剰発現させると、それら ATM-Chk2 シグナルの活性化が抑制され

ることも示した。近年、Sirt1の活性化剤としてポリフェノールの成分であるレズベラトロールが報告されているが、このレズベラトロールでH1299細胞を処理すると、これらATM-Chk2シグナルが逆に抑制されることも示した。

以上、本論文は、Sirt1を阻害することによりヒト癌細胞増殖抑制を示すことを確認した。またその増殖抑制された細胞体は細胞老化様形質を伴っていることを示した。p53蛋白はSirt1の主要な標的分子であり、細胞周期を制御しているが、今回の増殖抑制効果には関与していないことを示した。それに代わって、今回のSirt1阻害による増殖抑制効果には、細胞老化を制御するシグナル経路の一つであるATM-Chk2シグナル伝達経路が大きな役割を演じていることを示した。本研究でHDACクラスI、II HDACばかりでなく、クラスIIIであるSirt1も癌治療の標的分子となりうることを示した。また細胞老化や細胞老化様メカニズムの解明は、癌進展抑制メカニズムの解明につながり、新たな癌治療の可能性に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。