

がん（悪性腫瘍）とは、正常な細胞が無秩序な増殖を起こして浸潤・転移能を獲得し、次第に全身へと転移していく形質を持ったものを指す。またがん転移とは、がん細胞が原発巣とは別の場所に生着、増殖して二次的な腫瘍を形成することを指し、がんによる死亡の90%もの原因を担うと言われている。がん治療には外科的手術による原発巣の除去に加えて、がん細胞増殖を抑制する一般的な抗がん剤を用いた化学療法や放射線療法、さらには分子標的治療薬を中心とした薬物療法の研究、開発も進められている。しかしがん転移の治療については、現在のところ明確な分子基盤に基づく治療法はほとんど存在せず、その開発は急務である。

Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 (ASK1)は、細胞内ストレス応答性シグナル伝達経路である Mitogen-activated protein kinase (MAPK)経路の最上流に属する MAPKKK として当研究室にて同定された。ASK1 は当研究室の以前の研究結果などから、がんという病態において発がんの段階で、炎症反応の亢進やアポトーシス誘導、細胞周期の進行促進などを介して発がんやがんの進展を促進する場合も抑制する場合もあることが明らかになっていたが、さらにがんが進展した結果起きるがん転移における役割はこれまでに解析されていなかった。

これらの背景に基づき、申請者は ASK1^{-/-}マウスを用いて実験的肺転移モデルにおける ASK1 のがん転移への関与を検討した。肺への高転移性を示す悪性黒色腫細胞株及びルイス肺がん細胞株にホタルルシフェラーゼを恒常的に発現させた細胞（それぞれ B16F10-luc-G5 細胞と 3LL-Luc2 細胞）を尾静注し、肺への転移の程度を肺溶解液のルシフェラーゼ活性を測定することで定量的に評価した。後者の細胞株を用いて申請者は修士課程において、多段階からなるがん転移のどの段階において ASK1 が重要なのかを検証し、血中のがん細胞が血管外遊出を起こして増殖を開始する前の比較的早い段階に関与することを明らかにしていた。そこで本研究ではこれらの結果を踏まえて、どの細胞種の ASK1 欠損ががんの肺転移の減弱に寄与するかを明らかにし、その関与の分子メカニズムについて解析することで、ASK1 のがんの肺転移における詳細な役割の解明を目指した。具体的には、ASK1^{-/-}マウスの骨髄キメラマウスや細胞種特異的な ASK1 コンディショナルマウスを作出し、肺転移の表現型を解析することで以下の内容を明らかにした。

1. ASK1^{-/-}マウスでは実験的肺転移モデルにおいて B16F10-luc-G5 細胞及び 3LL-Luc2 細胞の肺転移が減弱する
2. 骨髄キメラマウスにおいて、donor 骨髄に由来する細胞と recipient に由来する細胞種のどちらからでも ASK1 を欠損すると肺転移が減弱する

3. 血小板での ASK1 欠損が ADP 依存的なアゴニストへの応答性を低下させ、*in vivo*において血小板の機能低下を引き起こし、B16F10-luc-G5 細胞の肺転移を減弱させる
4. 血小板において ASK1 は ADP 受容体である P2Y₁₂ のリン酸化を制御する
5. 血管内皮細胞での ASK1 欠損が B16F10-luc-G5 細胞と 3LL-Luc2 細胞双方の肺転移を減弱させる

血小板の解析によって、ASK1 が ADP 受容体である P2Y₁₂ のリン酸化に関与することで ADP シグナルを制御する可能性が提示された。血小板機能制御において MAPK の関与を示した報告は数多くあったものの、その上流である MAP3K が関与することを示唆した報告は本研究が初めてである。さらに ADP 受容体の P2Y₁₂ は G protein-coupled receptor (GPCR) の 1 つであり、一般に GPCR が下流で MAPK 経路を制御する例は報告されていたものの、MAP3K が GPCR のリン酸化を制御することを示唆した報告はこれまでになかった。一方がん転移については本研究によって、少なくとも血小板と血管内皮細胞の ASK1 が相乗的に肺転移を制御することが明らかになった。血小板の機能低下によっては、がん細胞と血小板の相互作用が低下し、がん細胞の生存が低下する、あるいは抗腫瘍性免疫によって検出されて貪食、除去されやすくなると予想される。一方血管内皮細胞の ASK1 欠損により、がん細胞が血管内皮細胞に接着できない、あるいは血管内皮細胞のアポトーシスを誘導できないために、血管外遊出できずに血中で細胞死を起こす可能性や、抗腫瘍性免疫による攻撃に晒されることで転移先臓器に生着できない可能性が考えられる。ASK1 がどの細胞種においてがんの肺転移に関与するかを明らかにした本研究は、阻害すべき ASK1 の細胞種を特定していることから、がんの肺転移の治療戦略においてそれらの細胞種を標的として ASK1 を阻害または発現低下させることの有用性を示唆している。今後の解析によって、がん転移の病態をより分子基盤に基づいて理解することができ、がん転移の新たな治療法にもつなげることができると考えられ、ASK1 の阻害ががん転移の新規治療戦略となり得ると期待される。

よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。