

論文審査及び最終試験又は学力の確認の結果の要旨

甲・乙	氏名	小柳 彰
学位論文名	Protective Roles of Cytoplasmic p21Cip1 /Waf1 in Senolysis and Ferroptosis of Lung Cancer Cells	
学位論文審査委員	主査	磯部 威
	副査	山根 正修
	副査	飯笹 久

論文審査の結果の要旨

抗がん剤で処理されたがん細胞の一部は、DNA損傷反応により細胞周期を低下・停止する cellular senescence (細胞老化) の状態になる。そして、このtherapy-induced senescence (TIS) は、様々な炎症性サイトカインや因子を産生する senescence-associated secretory phenotype (SASP) の表現型を示し、がんの再発を促進すると考えられている。また、CDK阻害分子である p16Ink4a (p16) や p21Cip1/Waf1 (p21) は細胞老化に関与しているが、ヒト肺がん細胞においては p16 の不活化が生じやすく、p21 がより重要と考えられる。そして、がん細胞における p21 の役割として、細胞死を促進または抑制するという相反する報告があり、多様な作用を示す。また、最近、老化に陥った細胞を選択的に除去できる senolytic drug が報告され、その一つが、Bcl-2/xL 阻害剤である ABT-263 (navitoclax) である。これらの知見に基づいて本研究では、抗がん剤である doxorubicin や pemetrexed により老化に陥ったヒト肺がん細胞での senolysis における p21 の役割を調べた。P16 を欠損したヒト肺がん細胞 A549 を doxorubicin で処理すると cytoplasmic p21 が増加し caspase-dependent senolysis が観察されたが、p21 を CRISPR/Cas9 法で欠失させた A549-KOp21 細胞では senolysis がさらに促進していた。Pemetrexed 処理した A549 でも cytoplasmic p21 が増加したが、老化に陥った A549 細胞に対しても (ABT-263 と同じ特異性を示す) ABT-737 は senolysis を示した。一方、A549-KOp21 細胞を pemetrexed で 4 日間培養すると顕著な細胞死が誘導され、フローサイトメトリー法と複数の阻害剤による検討から、この細胞死は iron-dependent な lipid peroxidation による細胞死である ferroptosis であった。この ferroptosis は ROS scavenger である N-acetyl-L-cysteine (NAC) により阻害されたが、lipid peroxidation レベルや lipid peroxidation を抑制する GPx4 タンパク質の発現には差を認めなかった。さらに、ヌードマウスを用いた異種移植モデルでは、pemetrexed 投与による抗がん効果は A549-KOp21 細胞だけに認められたが、A549 細胞や A549-KOp21 細胞に p21 を再発現させた細胞では認めなかった。さらに、公開されている clinical database を用いた解析では、p21 の発現が高い肺腺がん患者では予後が悪い傾向がみられた。以上の結果から、TIS 肺がん細胞での caspase-dependent senolysis や pemetrexed-induce ferroptosis という異なる細胞死において、老化状態で増加する cytoplasmic p21 が防御的に作用することが明らかになった。

最終試験又は学力の確認の結果の要旨

(主査：磯部 威) 本研究で、抗がん化学療法によって誘導される細胞老化や細胞死に p21 が防御的に作用することを解明した。申請者は多角的な質問に対して的確に答えるとともに、がん化学療法の新たな戦略についての深い洞察を加えており、学位授与に値すると判断する。

(副査：山根 正修) 申請者は、本研究において基礎的研究から p21 に着目、その役割を明らかにしさらに臨床検体においても予後因子として有意に関連することを明らかにし将来的に肺癌診療の進歩に役立つことを証明した。研究に従事する時間を十分に取っており、研究プロセスに主体的に関わり、その内容においても質疑応答の内容、態度をみて申請者は学位授与に値する

(副査：飯笹 久) 本研究において、申請者は p21 が化学療法時の増悪化因子であることを、生化学、分子生物学的解析を用いて解明した。申請者の発見は肺がんのみならず、多くのがんに応用可能であり、がん治療に新たな展開をもたらした画期的なものである。これらの事から、学位授与に値すると判断する。

(備考) 要旨は、それぞれ 400 字程度とする。