

## 論文審査の結果の要旨

ゲラニルゲラノイン酸 (GGA) は4つのイソプレンから成る非環式レチノイドで、癌の化学予防剤として有力であると考えられている。本論文は、いくつかの細胞培養系を用いて、このGGAによるがん化学予防のメカニズムを解析した。

GGAはモルモット線維芽細胞由来株の104C1細胞に細胞死を誘導した。しかし、ヒトの酸化酵素 (PHGPx) 遺伝子を導入し樹立した104C1/04C細胞については同じ条件下で細胞死を誘導しなかった。これは、GGAが過酸化物の過剰産生を誘導し、次にミトコンドリア内膜電位 ( $\Delta \Psi_m$ ) の消失を導き、最終的にアポトーシスによる細胞死に至るためと考える。また、ヒト肝癌由来細胞株であるHuH-7細胞でも同様にGGAによって $\Delta \Psi_m$ の消失が誘導された。これにはミトコンドリアにおける活性酸素種 (ROS) の一種であるスーパーオキシドの産生亢進が関与し、最終的に細胞死に至ったためである。さらに、ヒト急性前骨髄球性白血病由来細胞株のHL-60細胞はレチノイン酸と同様にGGAによって好中球へ分化誘導された。2,3-dihydroGGAによる刺激の場合、好中球への分化は見出されなかったが、脂肪滴をもつ細胞へ分化誘導された。

最近、オートファジーを起こしている細胞において脂肪滴やROSの産生・蓄積が明らかにされている。そこで、GGAによる細胞死を誘導する際、HuH-7細胞にオートファジーが生じるかを観察した。その結果、GGA添加後60分でHuH-7/GFP-LC3細胞でオートファゴソームが観察された。さらにGGAによりLC3 $\beta$ -I (活性型LC3前駆体、18kDa)はLC3 $\beta$ -II (オートファゴソーム膜結合型LC3、16kDa)に変換した。このLC3 $\beta$ -IIはGGA添加後24時間で、過剰に蓄積した。

以上の結果、GGAによって生じるROSによって損傷を受けたミトコンドリアを除去するためのオートファジー (ミトファジー) が、細胞死の引き金になったと思われる。しかも、GGAによって誘導されるオートファジーはLC3 $\beta$ -IIの過剰蓄積という不完全なものとなるため、オートファジー本来の生存目的が達成されず細胞死につながるものと考えられた。

以上、本論文は、GGAを添加するとまず細胞内で $O_2^-$ が産生され、これが活性酸素種の過剰産生を誘導してミトコンドリアを損傷させ、さらにこれを除去するためにオートファジーが引き起こされることを明らかにした。さらに、最終的には、GGAによって誘導されるLC3-IIが蓄積することからカスパーゼ非依存的な細胞死に至ることを示唆し、新しい知見を提供した。よって、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。