

| | |
|----------|---|
| 氏名 | むら かわ まさ お 村 川 正 男 |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (理 学) |
| 学位記番号 | 理 博 第 2368 号 |
| 学位授与の日付 | 平 成 13 年 3 月 23 日 |
| 学位授与の要件 | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 |
| 研究科・専攻 | 理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻 |
| 学位論文題目 | 寄 生 虫 感 染 魚 類 に 由 来 す る ア ポ ト ー シ ス 誘 導 分 子 AIP の 分 子 作 用 機 構 |

論文調査委員 (主査) 教授 米原 伸 教授 永田和宏 教授 井口 八郎

論 文 内 容 の 要 旨

本学位論文「寄生虫感染魚類に由来するアポトーシス誘導分子 AIP の分子作用機構」において、申請者は寄生虫 *Anisakis simplex* に感染した魚類において見いだされた新しいアポトーシス誘導タンパク質 AIP (apoptosis-inducing protein) が、ほ乳類細胞にアポトーシスを誘導する分子メカニズムを明らかにした。すなわち、AIP がアミノ酸 L-リジン を酸化して過酸化水素を産生し、この過酸化水素が細胞にアポトーシスを誘導することを明らかにした。また、過酸化水素に耐性である細胞、または抗酸化剤等の添加により過酸化水素に耐性を獲得した細胞では、AIP が必須アミノ酸である L-リジンを枯渇させることによってアポトーシスを誘導することも示した。AIP という新しいアポトーシス誘導タンパク質が、異なった二つの分子機構によって細胞にアポトーシスを誘導することを明らかにした。

アポトーシスという細胞死は多細胞生物の発生や恒常性の維持に必要な不可欠な現象である。具体的には、個体の正常な発生や生体の恒常性の維持のために害をなす細胞や不必要な細胞はアポトーシスという細胞死の機構によって除去されている。近年、ほ乳類細胞にアポトーシスを誘導する因子が多数見いだされてきたが、寄生虫に感染した魚類が産生する新しいアポトーシス誘導タンパク質 AIP も申請者の所属する研究室で発見されていた。そこで、申請者は AIP がアポトーシスを誘導する分子機構を解明することを目的に研究を行い、AIP が異なった二つの分子機構によって細胞にアポトーシスを誘導すること、またこれらの異なった分子機構は、最終的にミトコンドリアから細胞質へのシトクロム c の放出を誘導することによって caspase-9 を活性化してアポトーシスを誘導する共通性を有することを明らかにした。

本論文では、遺伝子操作によって組換え型 AIP を作製し、精製純化した組換え型 AIP を用いて、AIP が細胞にアポトーシスを誘導するに十分な量の過酸化水素を産生させること、このアポトーシスが抗酸化剤の添加によって阻害できることを示した。この過程で、抗酸化剤を添加しても時間が経過するとアポトーシスが誘導されることを申請者は発見した。そして、この遅いアポトーシスが、培養液中に必須アミノ酸である L-リジンを添加することによって阻害できることを示した。また、細胞を L-リジンだけを除いた培養液で培養するとアポトーシスが誘導されること、AIP を前処理した培養液はアポトーシスを誘導できるが、この培養液からは L-リジンが選択的に除去されていることを示した。

AIP は、ほぼ全てのがん化したヒト培養細胞株にアポトーシスを誘導できる。このなかには、抗酸化物質であるカタラーゼやチオレドキシンを産生するものも存在する。このような抗酸化活性を有する細胞にも AIP がアポトーシスを誘導できるという現象の分子機構が、本研究によって明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

アポトーシスという細胞死は多細胞生物が正常に発生し、生体の恒常性を維持するためには必要不可欠の重要な現象である。各種ウイルス・細菌や寄生虫の感染から宿主を防御することも、生体の恒常性の維持には必須であるが、このような防御にもアポトーシスが重要な役割を果たしていることが示唆されている。申請者らが研究を行っている寄生虫感染魚類が産

生する新規アポトーシス誘導タンパク質 AIP は、寄生虫からの感染防御に関わる新しい分子である可能性があり、興味深い。また、AIP はがん化した各種細胞株を含む広い範囲のほ乳類細胞にアポトーシスを誘導できることが分かっており、がん細胞を効率よく除去する方法との関連も興味深い。

まず申請者は、組換え型 AIP をバキュロウィルスのシステムで作製し、これを精製して研究材料とした。このような精製した組み換え型 AIP を用いることにより他のタンパク質の関与を否定することが可能となったので、組換え型 AIP を用いて実験を行った方向性は正しいと評価できる。そして、AIP が L-リジンを経路として過酸化水素を産生することを示し、いくつかの実験を組み合わせることによって、この過酸化水素によって細胞にアポトーシスが誘導されることを明らかにした。更に、申請者は AIP が過酸化水素に依存せずにアポトーシスを誘導できることを見いだした。そして、過酸化水素に依存しないアポトーシスは、必須アミノ酸である L-リジンの枯渇によることを、いくつかの実験を組み合わせて証明した。この部分の研究は良く計画が練られた後に実行され、L-リジン枯渇によるアポトーシスの誘導という新規の概念を説得力をもって示すことができているので、高く評価できる。

申請者はさらに実験を行い、AIP による二つの異なったアポトーシス誘導の分子機構が、最終的にはミトコンドリアを介して caspase-9 を活性化する経路に収束することも示している。このように、申請者が中心となって AIP によるアポトーシス誘導の分子機構を解明してきたことは、アポトーシスの分子機構と発がん、寄生虫感染症との関連を明らかにする基礎となるものであり、申請者の貢献は大きいと判断できる。

よって、博士（理学）の学位論文として価値あるものと認め、博士（理学）の学位を認定する。平成13年2月5日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。