

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                      |     |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 博士（ 医 学 ）                                                                            | 氏 名 | 今尾 武士 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Apaf-1- and Caspase-8-independent apoptosis<br><br>(Apaf-1 および Caspase-8 非依存性アポトーシス) |     |       |
| (論文内容の要旨)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                      |     |       |
| <p>アポトーシスのシグナル伝達には、2つの経路が知られている。1 つはミトコンドリア経路であり、Bax/Bak の活性化によりミトコンドリアから放出されたシトクロム c が Apaf-1 と複合体を形成することで、caspase-9 活性化を惹起し、caspase-3 活性化が起こる。もう 1 つはデスレセプター経路であり、デスレセプターへのリガンド結合を介して活性化された caspase-8 が、caspase-3 活性化を引き起こし、アポトーシスが誘起される。これらの分子は各経路に必須とされるが、最近、胎齢 14.5 日の Apaf-1 欠損マウスの胸腺細胞をスタウロスポリン(STS)で処理すると、caspase-3 が活性化されることが報告された。そこで本論文では、Apaf-1、Caspase-9、および Bax/Bak を欠損したマウスから胎仔胸腺細胞株を樹立し、未知のアポトーシス経路について詳細に解析した。</p> <p>これらの細胞株は、DNA 傷害、転写・翻訳阻害、および ER ストレスが惹起するアポトーシスに対して抵抗性を示した。一方、STS で処理すると、caspase に依存した細胞死や、caspase-3 活性化、ホスファチジルセリンの露出など、アポトーシス細胞に特徴的な変化が観察された。また、STS によるシトクロム c 放出は、Apaf-1 欠損細胞では生じるが、Bax/Bak 欠損細胞ではみられないことから、ミトコンドリア経路とは異なるアポトーシス経路の存在が示唆された。</p> <p>次に、caspase-8 の強力な阻害分子である CrmA を Caspase-9 欠損細胞株に発現させたが、STS による caspase-3 活性化は依然観察された。以上の結果は、従来知られている 2 つの経路とは異なるアポトーシス経路の存在を示唆する。</p> <p>次に、汎キナーゼ阻害剤である STS によるアポトーシスが、ホスファターゼ阻害剤で抑制されるかを検討したところ、セリン・スレオニンホスファターゼ阻害剤であるオカダ酸が阻害効果を示した。また、いくつかの STS 類縁体や H-89 が、Apaf-1 欠損細胞株で caspase-3 活性化を引き起こしたことから、この未知のアポトーシス経路は、リン酸化を介して調節されることが示唆された。</p> <p>次に、Apaf-1 欠損マウスの胎仔線維芽細胞を STS で処理したところ、胎仔胸腺細胞と異なり、caspase-3 活性化はみられなかった。一方、血球系細胞において Bax/Bak を欠損するマウスの成熟個体から胸腺細胞、骨髓細胞、および脾細胞を回収し、STS で処理したところ、caspase-3 活性化がみられた。以上の結果から、従来知られている経路と異なる未知のアポトーシス経路は、細胞特異性をもつことが示唆された。</p> |                                                                                      |     |       |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (論文審査の結果の要旨)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <p>アポトーシスのシグナル伝達には、caspase-3 活性化に集約する 2 つの経路が知られている。1 つは Bax/Bak、Apaf-1、および caspase-9 を必須とする経路、もう 1 つは caspase-8 を必須とする経路である。しかし最近、Apaf-1 欠損マウスの胎仔胸腺細胞を、汎キナーゼ阻害剤であるスタウロスポリン(STS)で処理すると、caspase-3 が活性化することが報告され、未知の経路の存在が提唱された。そこで本論文では、この未知のアポトーシス経路を詳細に解析した。</p> <p>Apaf-1 欠損細胞株を樹立し、STS で処理すると、caspase-3 活性化や、caspase に依存した細胞死など、アポトーシス細胞に特徴的な変化が観察された。また、Bax/Bak 二重欠損細胞や、caspase-8 の阻害タンパク質 CrmA を発現させた Caspase-9 欠損細胞においても、STS は caspase-3 を活性化させた。一方、STS によるアポトーシスは、セリン・スレオニンホスファターゼ阻害剤であるオカダ酸により阻害された。また、Bax/Bak を二重欠損した成熟マウスの胸腺細胞、骨髓細胞、および脾細胞においても、STS による caspase-3 の活性化がみられた。一方、Apaf-1 欠損マウスの胎仔線維芽細胞では、STS による caspase-3 の活性化はみられなかった。</p> <p>以上の結果から、未知のアポトーシス経路が、従来知られている 2 つの経路とは異なる分子機構を有すること、リン酸化を介して調節されること、および細胞特異性をもつことが示唆された。</p> <p>以上の研究は未知のアポトーシス経路の存在とその調節機構の解明に貢献し、この経路の責任因子同定に向けた今後の研究に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 4 年 1 2 月 2 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> |
| 要旨公開可能日： 年 月 日 以降                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |