



Title	Collaborative orchestration of BH3-only proteins governs Bak/Bax-dependent hepatocyte apoptosis under antiapoptotic protein-deficiency in mice
Author(s)	工藤, 慎之輔
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101798
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	工藤 慎之輔
論文題名 Title	Collaborative orchestration of BH3-only proteins governs Bak/Bax-dependent hepatocyte apoptosis under antiapoptotic protein-deficiency in mice (BH3-only蛋白の協調的作用がマウスの肝臓において抗アポトーシス蛋白欠損により引き起こされるBak/Bax依存的なアポトーシスを制御する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Objective)〕</p> <p>肝細胞ではアポトーシス促進蛋白であるBak、Baxとアポトーシス抑制蛋白であるBcl-xL、Mcl-1が均衡を保つことで恒常性が維持されており、多くの慢性肝疾患の病態にはBak、Baxの活性化に伴う肝細胞アポトーシスの亢進が関与する。BH3-only蛋白はBak、Baxを活性化することが知られており合計8個(Bid、Bim、Puma、Noxa、Bad、Bmf、Bik、Hrk)存在する。我々はこれまでにBH3-only蛋白BidおよびBimの肝臓における働きを報告してきたが、その他の蛋白の肝臓における役割は不明であり、これを明らかにすることが本研究の目的である。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>肝細胞アポトーシスの亢進に伴う慢性肝障害モデルマウスである肝細胞特異的Mcl-1欠損マウスおよびBcl-xL欠損マウスに対して、BH3-only蛋白Pumaを追加で欠損させたところ、肝細胞アポトーシスは抑制された。このことからPumaがアポトーシス抑制蛋白欠損により引き起こされるBak、Baxの活性化に関与することが示された。タモキシフェン誘導性に肝細胞特異的にMcl-1とBcl-xLが欠損するマウスを作成したところ、このマウスは広範な肝細胞アポトーシスによる急激な肝障害を引き起こしたが、ここからBH3-only蛋白Bid、Bim、Pumaを全て欠損させたところ肝障害は抑制された。しかしながら依然としてBak/Baxを欠損させたマウスと比較すると血清ALT値は高値であり、異なる別のBH3-only蛋白がBcl-xL、Mcl-1欠損により引き起こされるBak、Baxの活性化に関与していることが示唆された。この蛋白を検索するため、in vitroでの実験系を確立した。Doxycycline (Dox) 誘導性にBcl-xLとMcl-1の発現が消失するBid、Bim、Puma欠損マウス不死化肝細胞株を作成し、Doxを投与したところ48時間後にはアポトーシスが誘導された。この細胞株に対してsiRNAを用いてBH3-only蛋白Noxaをノックダウンしたところアポトーシスは有意に抑制された。一方でBad、Bmfのノックダウンではアポトーシスは抑制されず、BikおよびHrkに関しては肝細胞では発現を認めなかった。Noxaのin vivoでの働きを検討するため、タモキシフェン誘導性に肝細胞特異的にMcl-1とBcl-xLが欠損するマウスからBid、Bim、Puma、Noxaを欠損させたマウスを作成したところ、Bid、Bim、Pumaを欠損させたマウスと比較してアポトーシスは抑制された。また、肝細胞特異的Mcl-1欠損マウスにNoxaを追加で欠損させたところ肝細胞アポトーシスは抑制された。このことよりNoxaもBak、Baxの活性化に関与することが示された。その他のBH3-only蛋白の役割をin vitroで検討するため、Dox誘導性にBcl-xLとMcl-1の発現が消失するBid、Bim、Puma、Noxa欠損マウス不死化肝細胞株をさらに作成し、siRNAを用いて残りのBH3-only蛋白であるBadおよびBmfをノックダウンしたがアポトーシスは抑制されなかった。一方でBakおよびBaxをノックダウンするとアポトーシスは遮断された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>肝細胞において抗アポトーシス蛋白欠損により引き起こされるBak、Bax依存的なアポトーシスには、BH3-only蛋白Bid、Bimに加えてPuma、Noxaが関与することが示された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 工藤 慎之輔

	(職)	氏名	署名
論文審査担当者	主査	大阪大学教授	竹原 敏 印
	副査	大阪大学教授	猪俣 善 隆
	副査	大阪大学教授	工 田 啓 次

論文審査の結果の要旨

肝細胞ではアポトーシス促進蛋白であるBak、Baxとアポトーシス抑制蛋白であるBcl-xL、Mcl-1が均衡を保つことで恒常性が維持されており、多くの慢性肝疾患の病態にはBak、Baxの活性化に伴う肝細胞アポトーシスの亢進が関与する。BH3-only蛋白はBak、Baxを活性化することが知られており合計8個(Bid、Bim、Puma、Noxa、Bad、Bmf、Bik、Hrk)存在する。これまでにBH3-only蛋白BidおよびBimの肝臓における働きが報告されているが、その他の蛋白の肝臓における役割は不明であり、これを明らかにすることが本研究の目的である。本論文では肝細胞において抗アポトーシス蛋白欠損により引き起こされるBak、Bax依存的なアポトーシスには、BH3-only蛋白の中でBid、Bimに加えてPuma、Noxaが関与することを明らかとしており、学位に値すると考える。