



Title	Studies on Hepatocyte Apoptosis Induced by Endogenous Oxidative Stress
Author(s)	芝, 大
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43586
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	芝 大
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 7 7 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	Studies on Hepatocyte Apoptosis Induced by Endogenous Oxidative Stress (内因性酸化ストレスによるラット初代培養肝細胞アポトーシスに関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 嶋 本 典 夫 (副査) 教 授 小 倉 明 彦 教 授 中 西 康 夫

論 文 内 容 の 要 旨

酸化ストレスはその由来により外因性及び内因性に分けられるが、外因性酸化ストレスに比較し内因性酸化ストレスに関する研究はほとんど行われていない。生理的状态あるいは病態生理的状态では細胞内酸化還元バランスが重要な役割を果たしていることから、内因性酸化ストレス研究は重要と考えられる。一方、代謝過程では細胞内酸化還元バランスに影響を与える種々の代謝産物が生ずる。そこで、生体内で様々な代謝反応を行う肝細胞は内因性酸化ストレスの関与が他の細胞より大きいのではないかという仮説のもと、内因性酸化ストレスのラット初代培養肝細胞における役割について調べた。内因性酸化ストレスを惹起するために、酸化ストレス防御系酵素である catalase および glutathione peroxidase 活性を同時阻害する系を新たに構築した。両酵素同時阻害により細胞死が誘導され、また、細胞死は dihydroethidium の酸化量および脂質過酸化の増大を伴っていた。さらにこの細胞死は核凝縮・DNA 断片化を伴うアポトーシスであることを見出した。肝細胞においては、薬物代謝酵素であるチトクローム P450 が高発現しており、酸化ストレスへの寄与が想定されていたが、細胞レベルでは薬物代謝酵素以外の役割についてはほとんど解析されていなかった。チトクローム P450 活性を阻害したところ上記で誘導された脂質過酸化およびアポトーシスが完全に抑制された。上記アポトーシスにおいてはカスパーゼの活性化が検出されず、汎カスパーゼ阻害剤処置によっても抑制されなかったことからカスパーゼ非依存的アポトーシスである可能性を示唆した。次に、酸化ストレスの細胞内標的の同定を試みた。酸化ストレスの標的の一つと考えられている protein tyrosine phosphatase (PTP) 活性減少がアポトーシスに先だって引き起こされ、さらに抗酸化剤の同時処置でこの酵素活性の回復と共にアポトーシスが抑制されることを見出し、PTP は内因性酸化ストレスの標的であることを示唆した。PTP 活性は protein tyrosine kinase (PTK) 活性とのバランスで生存シグナルに関与することが知られていたため、extra-cellular regulated protein kinase (ERK) について調べたところ、この酵素が細胞死に先立って持続的に活性化されていることを見出した。さらに特異的 ERK 活性化阻害剤処置により、ERK 活性化・アポトーシス誘導の両方が抑制された。従来 ERK の一過性の活性化が生存シグナルに関与することが知られていたが、最近 ERK の持続的活性化が細胞死に関与することが活発に報告されてきている。本研究結果も後者の知見を支持し、ERK 経路の活性化は細胞種あるいは細胞環境で全く異なった機能を果たす可能性を提示した。

以上の結果より、ラット初代培養肝細胞における抗酸化酵素活性が阻害することにより内因性酸化ストレスの上昇を伴ったアポトーシスが誘導され、薬物代謝酵素チトクローム P450 がこの内因性酸化ストレスの主要因であること

を新たに明らかにした。さらに内因性酸化ストレスにより誘導されるアポトーシスは PTP 活性の減少と持続的 ERK 活性化を伴ったカスパーゼ非依存的な経路であることを示した。

論文審査の結果の要旨

内因性酸化ストレスの生体に及ぼす役割解明を目的としてラット初代培養肝細胞を用いて殆ど全ての肝細胞がアポトーシスへ移行する内因性酸化ストレス惹起系を新規に構築した。また、同系で従来のアポトーシス経路と異なる経路を明示し、細胞種、細胞環境等により、アポトーシス経路は変わり得るとのアポトーシス研究に重要な課題を提起した。以上の業績は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものとして認める。