

Title	In vivo cooperation between Bcl-xL and the phosphoinositide 3-kinase-Akt signaling pathway for the protection of epidermal keratinocytes from apoptosis
Author(s)	梅田, 二郎
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43856">https://hdl.handle.net/11094/43856</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	梅田 二郎
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17634 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	In vivo cooperation between Bcl-xL and the phosphoinositide 3-kinase-Akt signaling pathway for the protection of epidermal keratinocytes from apoptosis (表皮角化細胞のアポトーシスは Bcl-xL と phosphoinositide 3-kinase-Akt signaling pathway の協調作用により制御される。)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 邦彦  (副査) 教授 細川 互 教授 辻本 賀英

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

皮膚は生体における最外層に位置し、外界からの刺激に反応しつつホメオスターシスを保っている。そのために表皮角化細胞の細胞死、生存の機構は重要である。

Bcl-2 蛋白ファミリーに属し抗アポトーシス分子として知られている Bcl-xL は、表皮上層に位置する有棘細胞層に存在し、transgenic マウスの解析などより表皮の生存に重要な役割を担っていると推測された。しかしながら Bcl-xL の生体内での機能、とりわけ他の分子シグナルとの interaction についてはいまだ明らかにされていない点も多い。我々は Bcl-xL の皮膚における機能を詳細に解析するため、Cre/loxP 系を用いて表皮角化細胞特異的に Bcl-xL ノックアウトマウスを作製し、表皮細胞内 Bcl-xL の役割、他のシグナルとの協調につき新たな知見を得た。

#### 【方法及び結果】

ケラチン 5 プロモータ依存性に Bcl-xL 遺伝子を破壊したマウス (K5. Bcl-xL<sup>-/-</sup>) は正常に生まれ、一見皮膚及び付属器に異常を認めない。ウエスタン解析でこのマウスの角化細胞の Bcl-xL は欠失していたが Bcl-2 はむしろ対照群に比べ増加していた。しかし表皮に多数のアポトーシス細胞を認めたことより、角化細胞において Bcl-xL は constitutive な生存に必要であると示唆された。一方紫外線 (UVB) 照射による K5. Bcl-xL<sup>-/-</sup> マウス表皮のアポトーシス増加率は正常対象群のそれと同等であった。このことは Bcl-xL 以外の抗アポトーシスシグナルが UVB 照射時に働きうることを示唆した。

In vitro の系で、Bcl-xL<sup>-/-</sup> 角化細胞は成長因子を欠く培地で著明なアポトーシスを認めるものの HGF や EGF などの成長因子の添加で細胞死が回避された。この効果は phosphoinositide 3-kinase (PI3K) の阻害剤であるワートマニンによって完全に阻害されたことより Bcl-xL を欠損した角化細胞は PI3K/Akt シグナル依存性にアポトーシスを回避できることを示唆した。一方正常角化細胞の生存はワートマニンに影響されなかった。HGF の皮下注射によって、K5. Bcl-xL<sup>-/-</sup> マウスの表皮角化細胞のアポトーシスが回避出来たことによりこの事実は in vivo でも裏付

けられた。

さらにワートマニンの経皮投与によって K5. Bcl-xL<sup>-/-</sup>マウス表皮角化細胞の UVB 感受性は著明に増強したが、正常マウスではそのような現象はみられなかった。UVB 照射はリン酸化 Akt の表皮基底細胞層から有棘細胞層への分布変化をひきおこし、これは空間的に Bcl-xL との協調作用、あるいはその代償性の機構がはたらいっている可能性を示唆するものである。

#### 【総括】

Cre/loxP 系を利用した表皮角化細胞特異的な Bcl-xL 欠損マウスを解析した結果、Bcl-xL は constitutive な表皮角化細胞の生存に重要であり、また UVB 照射に対しては PI3K/Akt signaling pathway が細胞死制御に Bcl-xL と協調的に働いていることが明らかになった。

#### 論文審査の結果の要旨

表皮角化細胞のアポトーシスにおける Bcl-xL の役割、他のシグナルとの協調についてはこれまでいくつかの報告があったものの明らかにされていない部分が多かった。当論文では Cre/loxP 系を用いて表皮角化細胞特異的 Bcl-xL ノックアウトマウスを作製し、これを用いて Bcl-xL の皮膚における機能を解析している。In vitro の系で、Bcl-xL<sup>-/-</sup>角化細胞は成長因子を欠く培地で著明なアポトーシスを認めるものの HGF や EGF などの成長因子の添加で細胞死が回避された。この効果は phosphoinositide 3-kinase (PI3K) の阻害剤であるワートマニンによって完全に阻害されたことより、Bcl-xL を欠損した角化細胞は PI3K/Akt シグナル依存性にアポトーシスを回避できることを示唆した。さらに in vivo でもワートマニンの経皮投与によって K5. Bcl-xL<sup>-/-</sup>マウス表皮角化細胞の UVB 感受性は著明に増強した。当論文では in vivo での Bcl-xL と PI3K/Akt signaling pathway の協調作用を証明した点に意義があり、表皮角化細胞の細胞死、生存の機構の解明に大きく寄与すると考えられる。よって当論文を学位に値するものと認める。