The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress depends on activation of caspase-3 via caspase-12 in humans.
Author(s)	Hitomi, Junichi
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/45232
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【5】

氏　　名	人見淳一（ひとみ じゅんいち）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８４３３　号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学　位　論　文　名	Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress depends on activation of caspase-3 via caspase-12 in humans. （ヒト細胞において小胞体ストレスにより誘導される細胞死は caspase-12 の活性化を介した caspase-3 の活性化により引き起こされる。）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　遠山　正彌 （副査） 教　授　長田　重一　　教　授　辻本　賀英

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　　的〕

アルツハイマー病（AD）や脳虚血などの神経変性疾患患者脳で見られる病理学的な特徴として顕著な神経細胞死が挙げられる。近年、神経細胞死の実行機構について、細胞内小器官の一つである小胞体（ER）の機能異常、つまり蛋白質の糖鎖修飾の障害やカルシウムホメオスタシスの撹乱などによって ER 内腔に折り畳みの不十分な蛋白質が蓄積すること（ER ストレス）が引き金となって神経細胞死が引き起こされる可能性が報告されている。これまでに、ER ストレスにより引き起こされる神経細胞死の重要な実行分子の候補分子の一つとして Caspase-12 が報告されている。

本研究では Caspase-12 の ER ストレス誘導性の神経細胞死における役割および AD 病態との関わりについて検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

細胞に ER ストレスを誘導するために、人工的な ER ストレス誘導剤である tunicamycin（Tm）、thapsigargin（Tg）を用いた。ヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH 細胞に対して Tm、Tg 処理を加えた後、電子顕微鏡にて形態を観察した。その結果、これらの薬剤の処理によって付着するリボソームの解離、膨張などの ER の形態変化が認められ、その後、核の断片化などのアポトーシス様の細胞死の形態変化が引き起こされることが観察され、これらの薬剤の処理によって細胞に ER ストレスを誘導することが確認された。

次に Tm や Tg により引き起こされるヒト細胞のアポトーシスにおける Caspase-12 の役割の検討を行った。しかし、Caspase-12 はマウス、ラットのみ同定され、ヒトでは発現が確認されず未だ同定されていない。そこで、ヒトにおける Caspase-12 様分子の同定を試みた。Caspase ファミリー分子は互いに相同性を有していることから、マウス Caspase-12 をプローブとして用いヒト colon の cDNA library screening を行った。その結果、Caspase-12 および Caspase-1,5 などと共に ICE（interleukin-1 coverting enzyme）ファミリーに属するヒト Caspase-4 を最も相同

性の高い遺伝子として同定した。以上の結果から、Caspase-4 が Caspase-12 の orthologue である可能性が考えられるため、Caspase-4 の ER ストレス応答性について検討した。蛍光免疫染色法及び、免疫電顕法の結果、Caspase-4 は ER に局在することが示された。次に、ER ストレスによって Caspase-4 が活性化されるか否かの検討を行うため、SK-N-SH 細胞に ER ストレス及び非 ER ストレスを負荷した後、Caspase-4 の western blot を行った。Caspase-4 が ER ストレス特異的に活性化され、非 ER ストレス処理によっては活性化があまり認められなかった。更に siRNA によって Caspase-4 の発現を低下させた細胞では ER ストレスによる細胞死が部分的に抑制された。

Caspase-4 と AD 病態との関わりを調べるために、SK-N-SH 細胞にβアミロイド処理を加え Caspase-4 の活性化について検討を行った。βアミロイド処理によって Caspase-4 の活性化が認められ、また siRNA によって Caspase-4 の発現を低下させた細胞ではβアミロイド毒性による細胞死が部分的に改善された。更に AD の海馬領域で Caspase-4 の顕著な増加が認められ、疾患対照群の同領域では認められなかった。

〔総　　括〕

ER ストレスにより引き起こされる神経細胞死実行分子である Caspase-12 のヒト orthologue の候補として Caspase-4 を取得した。ヒト Caspase-4 は Caspase-12 と同様に ER に局在する Caspase であり、ER ストレス特異的に活性化され、その活性化は ER ストレスによる細胞死に必要であることが示された。更に、Caspase-4 はβアミロイドの毒性を仲介すること、AD 海馬において顕著な増加が認められたことから、AD 神経細胞死の実行に関わっている可能性が示された。

以上のことから、Caspase-4 は Caspase-12 と同様に、ER の機能異常により引き起こされる神経細胞死に関与し、更には AD 病態に関わっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病（AD）や脳虚血等の神経変性疾患の病理特徴である神経細胞死が細胞小器官の一つである小胞体（ER）の機能異常（ER ストレス）により引き起こされる可能性が報告されている。

本研究は ER に局在する Caspase-12 の ER ストレスにより誘導される細胞死及び AD との関わりについて検討を行った。

Caspase-12 と AD との関わりを検討するうえで、未同定のヒト Caspase-12 様分子の取得が必要となる。このような分子の取得を試みた結果、ヒト Caspase-4 を候補分子として取得した。Caspase-4 は ER ストレス特異的に活性化され細胞死に必要であること。更にβアミロイド毒性に必要であること及び AD 脳の海馬での顕著な発現増加が示された。

以上の結果は Caspese-4 の ER ストレス誘導性の細胞死及び AD での神経細胞死への関与を示唆するものであり、学位の授与に値すると考えられる。