

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	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	人見 淳一
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攪乱などによって 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 converting 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Caspase-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。