



Title	Presenilin-1 mutation activates the signaling pathway of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis
Author(s)	行岡, 太志
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48990">https://hdl.handle.net/11094/48990</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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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

氏名	ゆき おか ひと し 志 行 岡 太 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 8 6 3 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Presenilin-1 mutation activates the signaling pathway of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis (小胞体ストレスが引き起こすアポトーシスにおいてプリセニリン-1 変異体が caspase-4 のシグナリング経路を活性化する)
論文審査委員	(主査) 教 授 遠山 正彌  (副査) 教 授 武田 雅俊 教 授 辻本 賀英

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [ 目 的 ]

我々はこれまでにアルツハイマー病 (AD) の原因遺伝子の一つであるプリセニリン-1 (PS1) のミスセンス変異が小胞体 (ER) ストレスに対する脆弱性を増加させること、その結果、ER ストレスに対する抵抗性を脆弱にさせることで細胞死を誘導することを明らかにしてきた。一方、我々はヒト神経細胞において ER ストレス特異的に活性化を受ける因子として Caspase-4 であることを同定し、Pro-Caspase-4 が ER ストレス特異的に切断され活性型となることを報告してきた。そこで本研究では AD にみられる原因遺伝子の変異がアポトーシス経路に及ぼす影響を検討する目的で、AD の変異モデル細胞の一つである PS1 $\Delta$ E9 stable 細胞を用いて ER ストレス下でみられる Caspase-4 の活性及びアポトーシス関連因子に影響を与えるのか否かを検討した。

#### [ 方法ならびに成績 ]

ヒト神経芽細胞腫である SK-N-SH細胞にアルツハイマー病原因遺伝子 PS1 の変異モデルとして PS1 $\Delta$ E9 を用い、PS1 $\Delta$ E9 stable細胞をモデル細胞として、コントロールとしては WT の PS1 を発現する PS1 wt stable細胞を使用した。Tunicamycin (Tm)、Thapsigargin (TG) といった ER ストレス負荷に対し、PS1 の変異が Caspase-4 の誘導にどのような影響を与えているのか、さらにアポトーシスの実行因子である Caspase-3 にどのような影響を与えているのかについて western blotting 法により検討を行った。その結果、PS1 wt 細胞に比べて早期に PS1 $\Delta$ E9 stable 細胞では Caspase-4 および Caspase-3 の活性の増加が誘導されることを明らかとした。次に Caspase-4 が他のアポトーシス関連因子にどのような影響を与えるのかについて調べるために Caspase-4 を Cos-7 細胞に強制発現させ、Caspase-3 と Caspase-9 の挙動について Western blotting 法を用いて検討を行った。その結果、Caspase-4 の濃度依存的に Caspase-3 および Caspase-9 の活性の増加を確認した。また、長期の ER stress で誘導される PUMA の誘導による Cytochrome-c 経路の活性化がこれら Caspase の活性化に関与していることが報告されていることから Caspase-4 と PUMA の関連についても検討したが、Cos-7 細胞への caspase-4 を強制発現は PUMA の誘導に影響をしないことを明らかとした。

最後に Caspase-4 が直接的にミトコンドリアからの Cytochrome-c 流出に対して作用しているのか調べるため、Caspase-4 を強制発現させた Cos-7 細胞を用いてミトコンドリア分画と細胞質分画に分け、Cytochrome-c の細胞質への流出を Western blotting 法および免疫染色法を用いて検討した。それらの実験結果より、Caspase-4 によって Cytochrome-c は影響を受けないということを明らかにした。

#### [ 総 括 ]

PS1 $\Delta$ E9 stable 細胞が Caspase-4 及び caspase-3、9 といったアポトーシスシグナルを促進すること、また caspase-4 が cytochrome-c 経路を介さず、直接的に caspase-3、9 を切断することで神経細胞死の促進に関与していることを明らかにした。

これらのことはアルツハイマー病における原因遺伝子の変異体が ER stress 脆弱性を誘導し、その下流で caspase-4 が活性化され、実行因子として知られている Caspase-3 を活性化し神経細胞死に関与していることを示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はアルツハイマー病の原因因子として知られるプレセニリン 1 (PS1) 変異がヒト神経細胞において小胞体ストレス特異的な細胞死シグナルモデルとして知られる caspase-4 に及ぼす影響、ならびに caspase-4 活性と下流のシグナルの関係について検討したものである。本研究の結果、PS1 変異 (PS1 $\Delta$ E9) 発現神経細胞において、Caspase-4 及び caspase-3 の活性化促進が誘導されることを明らかにした。また、caspase-4 の強制発現形を用いた実験により、Caspase-4 は cytochrome-c を介さず、直接的に Caspase-3 および Caspase-9 を活性化することで神経細胞死の促進に関与していることを明らかにした。これらの研究によりアルツハイマー病の病態研究の解明、ヒト神経細胞における細胞死経路の解明に寄与したことから、学位の授与に値すると考えられる。