The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A BAX/BAK-INDEPENDENT MECHANISM OF CYTOCHROME C RELEASE
Author(s)	水田, 健
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49001
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

【10】

氏　　名	水　田　　健（みず　た　たけし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２１４７９　号
学位授与年月日	平成 19 年５月 21 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	A BAX/BAK-INDEPENDENT MECHANISM OF CYTOCHROME C RELEASE （Bax/Bak 非依存的シトクロム c 漏出機構の解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　辻本　賀英 （副査） 教　授　金倉　　譲　　教　授　長田　重一

論　文　内　容　の　要　旨

［　目　　的　］

ミトコンドリアにアポトーシスシグナルが入るとその膜透過性が亢進し、シトクロム c などのアポトーシス促進因子が細胞質に漏出する。Bc1-2 ファミリー蛋白質は、アポトーシス時のミトコンドリア膜透過性を調節することにより細胞死を制御している。アポトーシス促進性 Bc1-2 ファミリー蛋白質である Bax/Bak 欠損細胞の解析から、Bax/Bak はエトポシド、スタウロスポリン、紫外線などによって誘導されるアポトーシスに不可欠であることが明らかとなっている。我々は、Bax/Bak がミトコンドリアを経由する全てのアポトーシスシグナル伝達に必須であるか否かを検討するとともに、Bax/Bak 非依存的にシトクロム c 漏出、及び細胞死を誘導する系の存在を検証することを目的とし研究を行った。

［方法ならびに成績］

様々なアポトーシス刺激を Bax/Bak ダブルノックアウト胎仔線維芽細胞（DKO MEF）と Apaf-1 ノックアウト胎仔線維芽細胞（Apaf KO MEF）に加えて細胞死の多寡を検討した。その結果、アラキドン酸・カルシウムイオノフォアを同時に投与すると、DKO MEF ではシトクロム c 漏出を伴ったアポトーシスが誘導されたものの、Apaf KO MEF ではアポトーシスが緩和されていた。さらに、シトクロム c、Caspase-9 を siRNA でサイレンシングすると DKO MEF で観察されたシトクロム c 漏出を伴ったアポトーシスが抑制された。即ち、この刺激においては Bax/Bak 非依存的にミトコンドリアからシトクロム c が漏出し、アポトーシスを誘導していることが明らかとなった。また、この現象はアポトーシス抑制性 Bc1-2 ファミリー蛋白質である Bc1-x_L の過剰発現やミトコンドリア膜透過遷移現象（PT）阻害によって抑制することができなかった。しかし、セリンプロテアーゼ阻害薬である 4-(2-aminoethyl) benzenesulfonylfloride(AEBSF) はシトクロム c 漏出およびアポトーシスを抑制することが分かった。

［　総　　括　］

カルシウムイオノフォアとアラキドン酸は Bax/Bak 非依存的なシトクロム c 漏出と、それに伴うアポトーシスを引き起こすことが分かった。さらに、この細胞死に Bcl-2 ファミリー蛋白質やミトコンドリア膜透過遷移現象は関与し

ておらず、セリンプロテアーゼ阻害薬であるAEBSFによって抑制されることが分かった。これまで、Bax/Bakはミトコンドリアを介するアポトーシスシグナルに不可欠な分子であることが示されてきたが、今回の結果により、Bax/Bak非依存的シトクロムc漏出機構の存在が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

アポトーシス促進性Bc1-2ファミリー蛋白質であるBax/Bakは、アポトーシス時のミトコンドリア膜透過性を調節することにより細胞死を誘導する。Bax/Bakダブルノックアウト細胞の解析により、Bax/Bakは多様なアポトーシス刺激によって誘導されるアポトーシスに不可欠であることが知られている。本論文では、Bax/Bakがミトコンドリアを経由する全てのアポトーシスシグナル伝達に必須であるか検討すると共に、Bax/Bak非依存的にシトクロムc漏出、及び細胞死を誘導する系の存在を検証した。その結果、カルシウムイオノフォア A23187 とアラキドン酸はBax/Bak非依存的なシトクロムc漏出と、それに伴うアポトーシスを誘導することが分かった。さらに、この細胞死にBc1-2ファミリー蛋白は関与しておらず、セリンプロテアーゼ阻害薬によって抑制されることを明らかにした。これまで、Bax/Bakはミトコンドリアを介するアポトーシスシグナルに不可欠な分子であることが示されてきたが、本論文によりBax/Bak非依存的シトクロムc漏出機構の存在が明らかになり、アポトーシス時のミトコンドリア膜透過性亢進の分子機構の理解に重要な知見を与え、学位の授与に値すると考えられる。