



Title	Protein kinase C stabilizes X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) through phosphorylation at Ser87 to suppress apoptotic cell death
Author(s)	加藤, 希世子
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58241">https://hdl.handle.net/11094/58241</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</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	加 藤 希 世 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 3 9 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Protein kinase C stabilizes X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) through phosphorylation at Ser87 to suppress apoptotic cell death (プロテインキナーゼCはアボトーシス阻害蛋白(XIAP)のSer87のリン酸化により細胞死抑制を促進する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 武田 雅俊  (副査) 教 授 祖父江憲治 教 授 楽木 宏実

いる可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

プロテインキナーゼC (PKC) はアルツハイマー病脳で見られる老人斑の形成と神経原線維変化の形成を阻害するほか、患者脳での低下が報告されている。一方PKCとアルツハイマー病脳に見られる神經細胞死との直接的な研究はあまり進んでいない。今回PKCによるアボトーシス阻害タンパク質X-linked Inhibitor of Apoptosis protein (XIAP) のリン酸化が細胞死を抑制する可能性を見出し検討したところ、in vitroでのリン酸化反応と神経芽腫細胞SH-SY5Y細胞を用いた検討で、これまで報告がなかったPKCによるXIAPのSer87のリン酸化を初めて確認した。また、PKCがXIAPのSer87をリン酸化し安定化させることを通じて細胞死を抑制することを見出した。これらの結果より、アルツハイマー病患者脳で見られるPKCの活性低下が、XIAPのリン酸化を介して神經細胞死に関与していることが示唆された。またPKCの活性化能を有する化合物をベースとする薬剤開発の可能性も示唆された。

本論文は申請者 加藤希世子氏に学位を授与に値すると考えられる。

### 論文内容の要旨

#### [ 目 的 ]

アルツハイマー病を含む神経変性疾患では神經細胞死による神經脱落がみられることから、神經細胞死抑制経路の破綻が推察されるが、その詳細はいま明らかになってはいない。我々はカスバーゼ-3, -7, -9を直接阻害する内因性の細胞死抑制因子であるアボトーシス阻害タンパク質X-linked Inhibitor of Apoptosis protein (XIAP) に着目し検討を重ね、プロテインキナーゼC(PKC) がXIAPの安定化に関与している可能性を見出した。通常PKCは脳で高発現しているが、アルツハイマー病患者の剖検脳解剖では活性が低下することが報告されていることから、神経変性疾患における神經細胞死を理解するメカニズムの一つとしてPKCのXIAPを介した細胞死抑制経路が存在するものと仮定し検討を行った。

#### [ 方法ならびに成績 ]

PKCによりリン酸化されたXIAPのSer87が分解遅延に関わることが報告されている。そこでin vitroでリコンビナント XIAPにPKCを作用させ、XIAPのSer87のリン酸化を特異的に検出する抗体(pS87 XIAP)を用いてウェスタンプロットにて検討したところ、PKCがXIAPのSer87をリン酸化することが明らかとなった。そこでPKC活性化剤であるPhorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) を神経芽腫細胞SH-SY5Yの培地に添加し培養した後、pS87 XIAPを用いたウェスタンプロット法にてリン酸化レベルを検討したところ、細胞内でもPKCがXIAPのSer87をリン酸化することが確認された。次に野生型XIAPとSer87をAlaに替えたリン酸化を受けないS87A mutant XIAPをSH-SY5Y細胞に過剰発現させ、PMAでPKCを活性化させXIAPの分解を検討したところ、リン酸化を受けるwild type XIAPと比べS87A mutant XIAPは速やかに分解していた。 分解遅延により細胞内に蓄積したXIAPによる細胞死抑制の変化を調べるために、PMAで処理したSH-SY5Y細胞をアボトーシス誘導剤etoposideで処理した後細胞の生存性を比較したところ、細胞の生存性が高くなっていた。さらに細胞の生存性の上昇がPKCによるSer87のリン酸化に依存することを確認するため野生型XIAPとS87A mutant XIAPを過剰発現させたSH-SY5Y細胞を用いて同様の検討をしたところ、リン酸化を受ける野生型XIAPを過剰発現させた細胞が高い生存性を示した。

〔総括〕 PKCによるXIAPのSer87のリン酸化は細胞死抑制に重要であることが明らかとなった。また、PKCの活性と分布がアルツハイマー病脳で変化していることが報告されていることから、神経変性の初期過程においてはPKCによる XIAPのリン酸化を介した神經保護経路がアミロイドペプチドや炎症などのストレスに対して機能せず細胞死が起きて