The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Apaf-1-dependent and independent cell death in mouse development
Author(s)	長坂, 明臣
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/592
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【104】

氏　　名	長坂明臣（ながさかあきおみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２３０９９　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学　位　論　文　名	Apaf-1-dependent and independent cell death in mouse development （マウスの発生段階におけるApaf-1依存的細胞死と非依存的細胞死）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　長田　重一 （副査） 教　授　山本　亘彦　　教　授　村上富士夫　　教　授　近藤　壽人

論文内容の要旨

アポトーシスは不要な細胞、生体にとって害となる細胞を除去する細胞死の過程である。マウスの発生段階における Apaf-1 の役割は、これまで数多くのグループにより報告があったが、必ずしも一致してはおらず、混沌としている。その原因の一つとして、アポトーシスを起こした細胞は、速やかに貪食細胞により、貪食・処理される為、解析が困難であることが考えられる。

私達の研究室ではアポトーシス細胞の染色体 DNA は死細胞内で CAD（caspase-activated DNase）によって分解されるばかりでなく、この細胞がマクロファージに速やかに貪食された後、マクロファージに存在する DNase II によっても分解されることを示した。そして、DNase II 遺伝子を欠損するマウスの肝臓、胸腺などの組織内には核 DNA を大量にもつマクロファージが存在することを報告した。この DNase II を欠損させたマウスでは、死細胞の DNA を蓄積したマクロファージが確認されることから、マウスの発生段階のアポトーシスを研究する良い系であると考えた。

今回私は、Apaf-1 の機能を明らかにするため、Apaf-1 遺伝子欠損マウスと DNase II 遺伝子欠損マウスを掛け合わせ、Apaf-1/DNase II 二重欠損マウスを作製した。その結果、Apaf-1 遺伝子欠損マウスでも野生型と同程度の細胞死が起きていたが、殆どの臓器において caspase 3 は活性化していないことを見出した。しかも死細胞の DNA は intact な状態で保存されていた事から、Apaf-1 遺伝子欠損マウスでは、caspase/CAD (caspase-activated DNase)非依存的に細胞死が起きていると結論した。例外的に、胎生期 14.5 日目の Apaf-1 遺伝子欠損マウスの胸腺組織においては、野生型と同程度 caspase 3 が活性化しており、しかも死細胞の DNA は分解されていた。だが、胎生期 17.5 日目の胸腺では、殆ど caspase 3 は活性化しておらず、死細胞の DNA は intact な状態で保存されていた。一方、Apaf-1 遺伝子欠損マウスの指間や尻尾といった組織では、死細胞は、アポトーシスの形態をとらず、むしろネクローシスに近い形態をとり、マクロファージによって、貪食されていた。

以上の結果はマウスにおけるプログラム細胞死は、Apaf-1 が存在していなくても、Apaf-1 非依存的なアポトーシスまたはネクローシスが起きうることを示している。

論文審査の結果の要旨

申請者は、アポトーシスのシグナル経路分子である「Apaf-1」の役割を明らかにすることを目的として研究を行った。本論文の特徴は、DNaseII遺伝子を欠損するマウスを用い、死細胞の検出感度を飛躍的に増大させることにより、様々な組織での細胞死を観察できる系を構築した点にある。本研究では、Apaf-1遺伝子欠損マウスとDNase II遺伝子欠損マウスを掛け合わせ、特にマウス発生過程でのApaf-1の機能が解析された。その結果、Apaf-1遺伝子欠損マウスにおいては、細胞死が発生中期に著しく減少したが、発生後期では野生型と同程度の細胞死が起きていることが判った。さらに、Apaf-1遺伝子欠損マウスでは、ほとんどの臓器でcaspase3は活性化していないこと、DNAの断片化も生じていないことが見出された。そして、死細胞はアポトーシスの形態をとらず、むしろネクローシスに近い形態をとっていることも見出された。ただし、Apaf-1遺伝子欠損マウスの胎生期14.5日目の胸腺組織においては、caspase3の活性化とDNA分解が観察された。以上の結果から、マウスの発生の過程では、Apaf-1非依存的なアポトーシスまたはネクローシスでも細胞が死滅することが示唆された。

以上、申請者の論文は独創性があり、またその細胞死の分野への貢献も大きく、学位の授与に値すると考える。