

Title	DNase II activated by the mitochondrial apoptotic pathway regulates RIP1-dependent non-apoptotic hepatocyte death via the TLR9/IFN- β signaling pathway
Author(s)	齋藤, 義修
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/70728
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 齋藤 義修			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	竹原 敏也
	副 査	大阪大学教授	熊 御 淳
	副 査	大阪大学教授	山口 隆
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>アポトーシス刺激によりミトコンドリアDNAが細胞質中に放出されることが報告され、ミトコンドリアDNAを分解するとされるDNase IIが細胞死に関与する可能性が示唆されるが、肝細胞死におけるDNase IIの意義については不明であった。そこで、In vitro、In vivoのモデルを用いて肝細胞においてアポトーシス刺激を誘導したところ、DNase II活性欠損下では非アポトーシス型の細胞死が誘導され、この非アポトーシス型の細胞死がRIP1依存的であり、さらに、TLR9/IFN-β経路を介して誘導される明らかにした。また、脂肪性肝疾患マウスモデルではDNase II活性が低下しており、この活性低下が脂肪性肝疾患モデルにおいて非アポトーシス型細胞死の誘導に関与し、脂肪性肝疾患の病態進展に関与することを見出した。</p> <p>以上の結果は、脂肪性肝疾患の病態進展の解明へとつながる意義の深い研究であり学位に値すると考える。</p>			

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	齋藤 義修
論文題名 Title	DNase II activated by the mitochondrial apoptotic pathway regulates RIP1-dependent non-apoptotic hepatocyte death via the TLR9/IFN- β signaling pathway (ミトコンドリアを介したアポトーシス刺激により活性化されるDNase IIはTLR9/IFN- β 経路を介したRIP1依存的な非アポトーシス型肝細胞死を制御する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 アポトーシスや非アポトーシス細胞死といった肝細胞死が様々な肝疾患で認められることが報告されている。ミトコンドリア経路の活性化によりミトコンドリアよりアポトーシス誘導因子のCytochrome cが細胞質中に放出されることが知られているが、近年、ミトコンドリアDNAも細胞質中に放出されることが報告された。ミトコンドリアDNAを分解することが報告されるDNase IIが細胞死に関与する可能性が示唆されるが、肝細胞死におけるDNase IIの意義については明らかでない。そこで、肝細胞死における肝細胞DNase IIの意義について検討することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 マウス肝細胞株BNL CL2 (CL2) に対してBcl-xL阻害剤であるABT-737を添加したところアポトーシスが誘導された。CL2に対してDNase IIをsiRNAを用いてknockdownした後にABT7-737を添加したところ、Control群ではABT-737添加によりアポトーシスが誘導され、細胞質分画中のミトコンドリアDNAが増加した。DNase II knockdown群ではControl群に対してアポトーシスは同程度認められたが、IFN- β の発現が有意に上昇し、PI陽性細胞が有意に増加した。PI陽性細胞の誘導はRIP1阻害剤で抑制されたが、caspase阻害剤では抑制されず、非アポトーシス型肝細胞死と考えられた。IFN- β の発現上昇、非アポトーシス型肝細胞死はいずれもTLR9阻害剤により抑制され、また、ethidium bromide添加によるミトコンドリアDNAのdepletionによっても同様にいずれも抑制された。肝細胞特異的Mcl-1欠損マウスでは肝臓においてアポトーシスの誘導を認め、肝細胞DNase II活性の上昇を認めた。肝細胞特異的Mcl-1欠損マウスに対してさらにDNase IIを欠損させたところ、IFN- β の発現誘導とRIP-1依存的な非アポトーシス型細胞死の誘導を認め、TLR9阻害剤によりIFN- β 誘導と非アポトーシス型細胞死誘導は抑制された。慢性肝疾患におけるDNase IIの意義を検討するために、肥満を背景に脂肪肝を呈する、高脂肪食摂取負荷マウスモデルを用いて検討を行うこととした。高脂肪食摂取負荷によりマウス肝においてはコントロールに対してIFN- β の発現上昇とDNase II酵素活性の低下を認め、肝細胞アポトーシスに加えて非アポトーシス型肝細胞死が認められた。肝細胞特異的にDNase IIを欠損させると、高脂肪食摂取負荷により認められた非アポトーシス型肝細胞死が増悪し、肝線維化の進展を認めた。	
〔総括(Conclusion)〕 肝細胞に対するアポトーシス刺激はDNase II欠損時においてミトコンドリアDNAを介したTLR9依存的なIFN- β 産生とRIP1依存的な非アポトーシス型死を誘導した。Bcl-xLやMcl-1の不活性化により生じるアポトーシス刺激と異なり脂肪肝においてはDNase II活性が抑制され、アポトーシスと非アポトーシス型細胞死のいずれも生じ、肝線維化の進展へとつながる可能性が示唆された。	