



博士（人間科学）学位論文 概要書

「筋肉および神経の変性疾患の細胞死における
カスパーゼの活性化に関する研究」

2000年1月

早稲田大学大学院人間科学研究科

武笠 毅

指導教授 木村 一郎

アポトーシスは、多細胞生物の発生過程における形態形成や生体の防御、恒常性の維持に働いており、生体の維持に不可欠な細胞死である。アポトーシスの過程は遺伝子によって制御されており、能動的な細胞の死といえる。また、アポトーシスは病理的な要因によっても誘導されることが知られており、アポトーシスの異常な増進や減少はさまざまな疾患の原因となる。

多細胞生物の発生過程においては、特定の場所で発生の特定の時期に細胞死が起きるプログラム細胞死が重要である。プログラム細胞死はアポトーシスの概念のひとつとしてとらえられている。プログラム細胞死を制御する遺伝子の解析は、線虫の遺伝学的解析によって明らかにされてきた。細胞死の実行を支配する遺伝子 *ced-3*, *ced-4*, *ced-9* が発見され、脊椎動物でのこれらホモログとしてシスチンプロテアーゼであるカスパーゼファミリー、チトクローム *c* の結合蛋白質である *Apaf-1* と *Bcl-2* ファミリーが同定された。in vitro や細胞レベルでは、三者の関係は進化的に保存されていることが、多くの研究から明らかとなっている。

カスパーゼファミリーは、アポトーシスの実行過程において、中心的な役割を果たすプロテアーゼ群である。哺乳類においては現在までに12種類以上が発見されている。カスパーゼファミリーは活性の低い前駆体として生合成される、数カ所を切断されて活性型となり機能をもつようになる。したがって、アポトーシスの過程におけるカスパーゼの関与を理解するには、どのカスパーゼが活性化されているか知る必要がある。

本研究において、活性化したカスパーゼの切断点を特異的に認識して組織や細胞におけるカスパーゼの活性化を検出することが可能な抗カスパーゼ活性型抗体を作製した。この抗カスパーゼ活性型抗体を用いて、主に二つの研究課題を中心に実験を行った。一つは、レチノイン酸によるP19EC細胞の神経分化過程で観察される細胞死を発生過程に観察される中枢神経系でのプログラム細胞死のモデルとして、カスパーゼ3の活性化とその制御の分子機構の解析である。もう一つは、各種カスパーゼの切断点特異的な抗活性型抗体を作製し、カスパーゼファミリーが筋肉および神経変性疾患に見られる細胞死に関与しているかを明らかにすることである。

本研究の結果、レチノイン酸によるP19 EC 細胞の神経分化過程および、マ

ウスの神経発生過程においてカスパーゼ3が活性化されることが明らかになった。

さらに、メロシン欠損の先天性筋ジストロフィーのモデルマウスである dy/dyマウスの筋組織では抗カスパーゼ3, 9 活性型抗体陽性の筋線維が観察され、メロシン/インテグリンのシグナル欠損がカスパーゼ3, 9の活性化を誘導し、細胞死をもたらすことが明らかとなった。また、こうした抗活性型抗体は、細胞内でのカスパーゼ活性化の場所を特定するのにも役立った。CAGリピートの伸長を原因とするハンチントン舞踏病、DRPLAなどの神経変性疾患では、ポリグルタミンによる核内凝集が細胞死を誘導すると考えられてきたが、今年になり、カスパーゼ8の活性化がポリグルタミンにより誘導されることが報告されたものの、どのようにカスパーゼ8を活性化するか不明であった。本研究において、カスパーゼ8の抗活性型抗体を作製し、カスパーゼ8がポリグルタミン凝集とともに核内で活性化されることを明らかにすることができた。

このように、カスパーゼは発生過程でのプログラム細胞死のみならず、各種変性疾患においても細胞死の実行に関与していることが明らかとなった。