

氏名	東 洋 一 郎
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 2443号
学位授与の日付	平成15年3月25日
学位授与の要件	医学研究科生理系神経情報学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	The p53-activated Gene, <i>PAG608</i> , Requires a Zinc Finger Domain for Nuclear Localization and Oxidative Stress-induced Apoptosis (P53関連遺伝子PAG608はその核への局在と酸化ストレスによるアポトーシスにおいてジンクフィンガードメインを必要とする)
論文審査委員	教授 清水 憲二 教授 岡田 茂 教授 西崎 和則

学位論文内容の要旨

p53 関連遺伝子である PAG608 は、p53 が関与するアポトーシスにおいて p53 によって誘導されることは知られているが、神経細胞のアポトーシスにおける役割は明らかになっていない。本研究では、酸化ストレスによる培養神経細胞のアポトーシスにおける PAG608 の関与について検討した。PC12 細胞において 6-hydroxydopamine (6-OHDA) 添加は PAG608, p53 発現を増加させた。一方、PC12 細胞へのアンチセンス PAG608 cDNA の導入は、6-OHDA または H₂O₂ によるアポトーシスを抑制し、6-OHDA によるカスパーゼ 3 の活性化や DNA の断片化、ミトコンドリアの膜電位の低下、p53, Bax 発現の誘導も抑制したが、1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺) による細胞死は抑制しなかった。これらの結果は PAG608 が p53 を介するアポトーシス経路においてミトコンドリアの膜電位の低下より上流で関与していることを示唆している。また、PC12 細胞あるいは B65 細胞に PAG608 cDNA を導入すると p53 発現が増加したことから、PAG608 は逆に p53 発現を誘導しうることを明らかにできた。さらに、第一ジンクフィンガードメインを欠失させた変異型 PAG608 は 6-OHDA によるアポトーシスと野生型 PAG608 の核への移行を阻止した。以上、酸化ストレスによるカテコールアミン系神経細胞において、PAG608 は第一ジンクフィンガードメインを介して核に局在し、p53 発現を誘導し、アポトーシスを惹起することを明らかにした。

論文審査結果の要旨

本研究は p53 によって誘導される PAG608 が酸化ストレスによる神経細胞のアポトーシスにおいて果たす役割について解析したものである。良く用いられる神経系培養細胞 PC12 に 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を投与すると PAG608, p53, Bax の発現が促進され、同時に Caspase 3 の活性化、DNA の断片化、ミトコンドリア膜電位低下、等が起こってアポトーシスが誘導された。この系に PAG608 のアンチセンス cDNA を一過性又は恒常的に発現させるとこれらの全てが抑制されたが、MPP⁺ イオンによる細胞死は抑制しなかった。この結果から、6-OHDA による p53 依存性アポトーシス経路において、PAG608 がミトコンドリア膜電位低下の起こる段階以前（上流）で関与していることが示唆された。さらに、これらの細胞に PAG608 cDNA を導入すると p53 遺伝子発現が増加したことから、PAG608 は逆に p53 発現を誘導できることを初めて発見した。本研究からは更に、PAG608 の遺伝子改変型 cDNA を 4 種作製して 3 個の Zn-フィンガードメインの役割についても解析し、第一 Zn-フィンガードメインが欠失した場合のみ 6-OHDA によるアポトーシスと野生型 PAG608 蛋白の核への移行を優性に阻害することを発見した。これらのことから、酸化ストレスによるカテコールアミン系神経細胞死において、PAG608 は第一 Zn-フィンガードメインを介して核に局在し、p53 を誘導することによりアポトーシスを起こさせることを明らかにした。

以上のように、本研究は酸化ストレスによる神経細胞死の分子機構解明に大きな進展を促す新しい知見を得たもので、将来的にはある群の脳神経疾患の分子標的治療を可能とする展望を開いた点で、極めて意義ある研究成果と認めた。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。