論 文 内 容 の 要 旨

論文題目　Calcineurin induces apoptosis in neuronal and nonneuronal cells through p53/caspase –3 pathway.
（Calcineurin による p53/caspase-3 経路を介した神経細胞および非神経細胞におけるアポトーシス。）

氏名　池順姫

Calcineurin は Ca2+/calmodulin 依存性の serine/threonine phosphatase である。Calcineurin の高発現や細胞質中の free Ca2+の増加により、感受性のある細胞ではアポトーシスが誘導される。しかし、calcineurin がどのような機序でアポトーシスを誘導するのか、あるいは、calcineurin によるアポトーシスカスケードにどのような分子が存在するのかほとんどわかっていない。Calcineurin は脳の中でも虚血、てんかん、あるいは、変性疾患に際して脆弱な領域に高発現していることが知られている。このことは、calcineurin が何らかのかたちで神経細胞死に関与している可能性を示唆している。本研究の目的は、神経細胞において、calcineurin の活性が apoptosis を誘導するか、また、もしそうならば、それはどのような機序で apoptosis を誘導するのかを明らかにすることを目的とした。Calcineurin の catalytic subunit A を adenovirus vector に組み込んで、神経細胞あるいは非神経細胞に導入し発現させた。Calcineurin の恒常的な発現により初代培養

神経細胞あるいは神経細胞に分化した PC12 細胞でアポトーシスが誘導された。また、これらのアポトーシスはミトコンドリアからの cytochrome c の放出および caspase-3 の活性化を伴うアポトーシスであることが明らかになった。このアポトーシスは caspase-3 の阻害剤である DEVD-CHO あるいは Bcl-2、CrmA の高発現により抑制された。さらに、calcineurin によるアポトーシス誘導の機序を詳細に調べるために、U87 グリオーマ細胞あるいは mouse embryonic fibroblast (MEF) において calcineurin を強制発現させると野生型 p53 タンパク質の蓄積が認められ、引き続いてアポトーシスが誘導された。U87 細胞に dominant negative p53 mutant cDNA を導入するとこのアポトーシスが抑制された。さらに、p53 ノックアウトマウスから作製した MEF では calcineurin の強制発現によるアポトーシスは著明に抑制された。また、Ser-15 のリン酸化型 p53 に特異的に反応するモノクローナル抗体を用いて Western blot を行なうと、calcineurin の強制発現により蓄積してきているのは Ser-15 のリン酸化型 p53 であることが明らかとなった。Ser-15 のリン酸化により p53 は ubiquitin E3 ligase である MDM-2 と結合できずに分解されずに安定化すると考えられている。以上より、calcineurin は p53 の Ser-15 のリン酸化による p53 の安定化を介して、その下流の cytochrome c の放出、caspase-3 の活性化を介してアポトーシスを誘導しているものと考えられる。