

## 審査の結果の要旨

氏名 鹿間 芳明

本研究は、アポトーシスのシグナル伝達に参与するカスパーゼ 8、10 のプロドメイン領域の高発現により、レセプター(Fas 等のいわゆる death receptor)を介するアポトーシスが抑制されるのではないかという仮説を検証し、そのメカニズムを解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. カスパーゼ 8 及びカスパーゼ 10 のプロドメイン領域 (PDCasp8、PDCasp10) の細胞内局在を、GFP タグを用いて検討した。いずれの蛋白も、高発現により細胞質に線維状の凝集塊を形成した。この凝集塊は、細胞骨格を構成する蛋白の局在とは一致しなかったが、アダプター蛋白である FADD、及びゴルジ体の局在と一致した。PDCasp10 の一連の欠失変異体を用いた実験から、PDCasp8、PDCasp10 に含まれる 2 つの Death Effector Domain (DED) の両方が、FADD との結合及び線維状凝集塊の形成に必要であることが示された。
2. カスパーゼ 8、10 の全長を 293 細胞内に高発現させると速やかな細胞死が観察されるが、PDCasp8 あるいは PDCasp10 を全長カスパーゼ 8 と共発現させると、細胞死は抑制された。一方、全長カスパーゼ 10 の高発現による細胞死は、PDCasp8、PDCasp10 の共発現により抑制されなかった。
3. あらかじめ PDCasp8 あるいは PDCasp10 を高発現させた 293 細胞は、agonistic 抗 Fas 抗体による細胞死に抵抗性を示した。この細胞死抑制効果もまた、2 つの DED が両方とも必要であった。
4. Tet-On システムを用いて、PDCasp8、PDCasp10 の発現ベクターを Jurkat 細胞に stable に導入し、細胞死が抑制されるかどうか検討した。その結果、Fas を介する細胞死は抑制されたが、スタウロsporin 処理による、death receptor を介さない細胞死は抑制されなかった。

5. 別の death receptor である TRAIL レセプターを介する細胞死も、PDCasp8、PDCasp10 により抑制された。これは、上記の 293 細胞及び Jurkat 細胞を用いた系の両方で確認された。
6. 293 細胞に PDCasp8、PDCasp10 を高発現させることにより、NF- $\kappa$ B の活性化が観察された。NF- $\kappa$ B 活性化はアポトーシスを抑制することが知られており、これが PDCasp8、PDCasp10 による細胞死の抑制のメカニズムである可能性が示唆された。ここでもまた、プロドメイン内の 2 つの DED が両方とも必要であった。

以上、本論文は、カスパーゼ 8 及び 10 のプロドメイン領域の高発現により death receptor を介する細胞死が抑制されること、それには同領域にある 2 つの DED が両方とも必要であることを明らかにした。カスパーゼ 8、10 にはいずれも、PDCasp8 および PDCasp10 に類似したプロドメイン領域のみのアイソフォームが存在することが知られており、これらのアイソフォームが、death receptor を介する細胞死のシグナル伝達に対する制御機構を担っている可能性があると考えられる。悪性腫瘍や免疫異常、神経変性疾患等様々な疾患のメカニズムにかかわると思われる細胞死のシグナル伝達の制御機構の解明に対し、本研究は重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。