

論文審査の結果の要旨

氏名 塩川 大介

本論文は6章からなる。第1章はイントロダクションである。特にアポトーシスに於けるヌクレオソーム単位でのDNA断片化メカニズムについて最新の知見をレビューし、本研究による成果の当該研究分野での位置づけ、重要性について述べている。

第2章は論文提出者が発見した新規なエンドヌクレアーゼ DNase の精製、cDNA クローニング、さらに DNase のアポトーシス DNase としての活性について述べている。本章に於いて論文提出者は、ラット脾臓より DNase を完全精製、その性状及び部分アミノ酸配列を解析、得られた配列情報に基づきラット、ヒト、及びマウス DNase cDNA を単離した。予想されるアミノ酸配列により、DNase が DNaseI ファミリーの新たなメンバーであることを明らかとした。さらに細胞に外来導入した DNase はアポトーシスの誘導に伴い活性化され、ヌクレオソーム単位でのDNA断片化を触媒することを見いだした。以上の結果により、論文提出者は DNase が DNaseI ファミリーに属する新規なアポトーシスエンドヌクレアーゼであることを示した。本章の成果は、DNase を中心とする新規なアポトーシス経路の存在を示唆する点で新しく、当該研究分野に於いてインパクトのある研究であると言える。

第3章は DNaseI ファミリーに於ける DNase の位置づけ、さらに DNase の活性化機構について述べている。本章に於いて論文提出者は、すべての DNaseI 様 DNase の酵素学的性状を比較検討し、それぞれの特徴を詳細に述べている。さらに DNaseI 様 DNase のアポトーシスへの関与を調べ、当該 DNase 群において DNase のみがアポトーシスエンドヌクレアーゼとして機能することを明らかとした。また、DNase の活性化機構の本体がアポトーシスの誘導に伴う核移行であることを示した。以上の結果は DNase に見いだされたアポトーシス DNase

活性の特異性を示し、さらに DNase のアポトーシスに伴う活性化機構を明らかとした重要な研究成果であると言える。

第4章は筋芽細胞分化に伴うアポトーシスに於ける DNase の役割について述べている。本章に於いて論文提出者は、DNase が筋分化に伴い発現誘導されることを見だし、分化過程でアポトーシスを起こした細胞に於いて DNA 断片化を触媒することを示した。興味深いことに未分化筋芽細胞のアポトーシスに於いては DNA ラダー形成が観察されないが、分化誘導後に起こるアポトーシスは顕著な DNA 断片化を伴うことが知られていた。本章に述べられた結果は、この分化依存的 DNA 断片化のメカニズムをアポトーシス DNase の発現変化という新たな視点で解き明かした重要な研究成果であると言える。さらに内在 DNase がアポトーシス DNase として働く局面を初めて明らかとした点でも新しい。

第5章は神経細胞分化に伴うアポトーシスに於ける DNase の役割について述べている。本章に於いて論文提出者は、神経細胞分化に伴うアポトーシス DNase の発現変化を検討し、未分化細胞では CAD 発現が認められるが、分化細胞では CAD は消失し DNase が発現誘導されることを見いだした。さらに神経細胞アポトーシスに於ける CAD 及び DNase の役割を解析し、未分化細胞のアポトーシスに於いては CAD が、分化過程に於ける自発的アポトーシス及び神経細胞の NGF 除去によるアポトーシスに於いては DNase がそれぞれ DNA 断片化を触媒することを明らかとした。以上の結果により論文提出者は、分化誘導アポトーシスに於ける DNase 経路の普遍性を示唆し、さらに神経細胞死に於ける CAD と DNase の役割を示すことに成功している。特に本章が述べる細胞分化状態によるアポトーシス DNase の使い分けと言う概念は独創的であり、今後のアポトーシス研究に於ける新たな展開へとつながる重要な研究成果であると言える。

第6章は総合討論である。本章に於いて論文提出者は自らの研究成果を総括し、得られた知見から導きだされる独自の仮説を展開、分化過程にある細胞が DNase 経路により分化に失敗した細胞、余剰な細胞の速やかな除去を遂行する可能性について述べている。

なお、本論文第2章は岩松明彦、田沼靖一、第3章は志鹿由香利、田沼靖一、第4章は小林隆信、田沼靖一、第5章は田沼靖一、それぞれとの共同研究であるが、本論文を構成するすべての研究は論文提出者が主体となり実験及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上に述べた論文審査の結果に基づき、博士（理学）の学位を授与できると認める。