

「ゲノムの構造と機能」

平成10年度採択研究代表者

長田 重一

(大阪大学大学院医学系研究科 教授)

「アポトーシスにおけるゲノム構造変化の分子機構」

1. 研究実施の概要

アポトーシスではカスパーーゼと呼ばれるプロテアーゼが活性化され、種々の細胞内分子を切断する。そしてその最終段階で、カスパーーゼは特異的な DNase(CAD)を活性化し、染色体 DNA を切断する。本研究はアポトーシスのシグナル伝達機構、特に CAD の活性化機構、反応機構、およびアポトーシスにおける染色体 DNA 切断の役割を解析しようとするものである。私達はさらにアポトーシスの初期の段階、すなわちゲノムの損傷がどのような分子、機構によって認識されアポトーシスの実行へと導かれるかを検討することも目的としている。

2. 研究実施内容

動物細胞は絶えず、下界からの刺激（例えば、ウィルス感染、紫外線、種々の化学物質）にさらされており、これらの刺激はゲノムを損傷する。アポトーシスは生体の恒常性を維持するうえで、これら傷ついた細胞、有害な細胞、無用の細胞を除去する細胞死の機構である。この過程ではカスパーーゼと呼ばれる一群のプロテアーゼが順次、活性化され、種々の細胞内コンポーネントを切断し、細胞膜の湾曲、核の凝縮と断片化を引き起こし細胞を死へと導く。また、アポトーシスの最終段階では染色体 DNA がまず、50–200kb、次いでヌクレオソームの単位へと断片化される。

私達は、これまでに “death factor” である Fas リガンドによって引き起こされるアポトーシスの生化学的解析からアポトーシスの際、活性化される DNase (CAD, caspase-activated DNase) を同定した。この因子は増殖している細胞内ではその阻害因子 (ICAD, inhibitor of CAD) と複合体を結合しており、アポトーシスの刺激によりカスパーーゼが活性化されると、このプロテアーゼが ICAD を切断、不活化し、これによって自由になった CAD が染色体 DNA を切断すると考えられる。最近この機構は Fas リガンドばかりでなく、抗癌剤、放射線照射などによって誘導されるアポトーシスの際にも活性化されることを明らかとした。

本研究はこのような背景のもとに、アポトーシスの最終段階で作用する DNase

CAD, およびその inhibitor, ICAD の構造を明らかにし、その活性化機構、作用機構を、生化学的、分子生物学的に解析しようとする点に特色がある。また、アポトーシスにおける染色体 DNA 切断の意義を CAD や ICAD を欠質したマウスや、ICAD の non-cleavable の変異体のトランスジェニックマウスを用いて解析する。またショウジョウバエの CAD、ICAD homolog を単離し、CAD,ICAD の生理作用をハエの遺伝子を用いて解析しようとするものである。

3. 主な研究成果の発表（論文発表）

- Hashimoto, H., Nishino, A., Shintani, N., Hagihara, N., Copeland, N., Jenkins, N., Yamamoto, K., Matsuda, T., Ishihara, T., Nagata, S. and Baba, A. (1999). Genomic organization and chromosomal location of the mouse vasoactive intestinal polypeptide 1 (VAPC1) receptor. *Genomics* 58, 90-93.
- Hashimoto, W., Osaki, T., Okamura, H., Robbins, P. D., Kurimoto, M., Nagata, S., Lotze, M. T. and Tahara, H. (1999). Differential antitumor effects of administration of rIL-18 or rIL-12 are mediated primarily by Fas-FasL and perforin induced tumor apoptosis respectively. *J. Immunol.* 163, 583-589.
- Kuwano, K., Hagimoto, N., Kawasaki, M., Yatomi, T., Nakamura, N., Nagata, S., Suda, T., Kunitake, R., Maeyama, T., Miyazaki, H. and Hara, N. (1999). Essential roles of the Fas-Fas ligand pathway in the development of pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.* 104, 13-19.
- Miwa, K., Hahimoto, H., Yatomi, T., Nakamura, N., Nagata, S. and Suda, T. (1999). Therapeutic effect of an anti-Fas ligand monoclonal antibody on lethal graft-versus-host disease. *Int. Immunol.* 11, 925-931.
- Sakahira, H., Enari, M. and Nagata, S. (1999). Functional differences of two forms of the inhibitor of caspase-activated DNase, ICAD-L and ICAD-S. *J. Biol. Chem.* 274, 15740-15744.
- Sakahira, H., Enari, M., Ohsawa, Y., Uchiyama, Y. and Nagata, S. (1999). Apoptotic nuclear morphological change without DNA fragmentation. *Curr. Biol.* 9, 543-546.
- Samali, A., hivotovsky, B., Jones, D., Nagata, S. and Orrenius, S. (1999). Apoptosis: Cell death defined by caspase activation. *Cell Death & Diff.* 6, 495-496.