

氏名(本籍)	もり と なお き 森 戸 直 記 (茨 城 県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 3440 号		
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 月		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	<b>Nrf2 regulates the sensitivity of death receptor signals through intra-cellular glutathione levels.</b> (転写因子 Nrf2 は細胞内グルタチオン濃度により細胞死受容体の感受性を制御する。)		
主査	筑波大学教授	理学博士	坂 内 四 郎
副査	筑波大学教授	医学博士	原 晃
副査	筑波大学助教授	獣医学博士	杉 山 文 博
副査	筑波大学講師	博士(医学)	柳 川 徹

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

転写因子 Nrf2 (NF-E2 related factor 2) は塩基性領域ロイシン・ジッパー (b-Zip 構造) を有する転写因子であり, 抗酸化剤応答配列を介して酸化ストレス防御系や異物代謝系第二相酵素群の転写制御を行う。Nrf2 欠損マウスではグルタチオン合成に関わる酵素群である  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase ( $\gamma$ -GCS) や cystine membrane transporter (system X<sub>c</sub>) などの活性低下が知られている。さらに酸化ストレス防御系酵素群の活性低下から高酸化ストレス状態となり, Nrf2 欠損マウスでは細胞内還元型グルタチオン (GSH) の低下が認められる。一方, 慢性的な GSH の低下があると death receptor (細胞死受容体; Fas, TNF-receptor I) の感受性が亢進することが最近明らかになってきた。これらのことから Nrf2 が欠損すると death receptor の感受性が亢進する可能性があり, その検討を行った。

### (対象と方法)

1. Nrf2 野生型および欠損型マウスにより胸腺細胞を分離し, 抗 Fas 抗体を加え 16 時間培養し細胞の生存を調べることにより, Fas の感受性を検討した。また Fas の感受性の違いが細胞内 GSH 濃度の差によることを明らかにするため, 胸腺細胞内 GSH 濃度を測定した。さらに細胞内で GSH に変化する GSH エチルエステル (GSH-0Et) を添加し Nrf2 欠損胸腺細胞における Fas の感受性の変化を検討した。
2. Nrf2 野生型および欠損型マウスに抗 Fas 抗体および TNF- $\alpha$  を投与することで肝臓のアポトーシスを誘導し生体内での death receptor の感受性の違いを検討した。同時に肝臓内の GSH 量の測定, GSH-0Et の追加投与による death receptor の感受性の影響を検討した。肝臓のアポトーシスの評価は血清 alanine aminotransferase 濃度の測定および組織学的評価を行った。

### (結果)

1. Nrf2 欠損型胸腺細胞は野生型胸腺細胞に比べ Fas の感受性が亢進していた。また, 欠損型胸腺細胞は野

生型胸腺細胞に比べ細胞内 GSH 濃度が低下していた。Nrf2 欠損型胸腺細胞における Fas の感受性亢進は GSH-0Et 添加によりほぼ消失した。

2. Nrf2 欠損型マウスは野生型マウスに比べ Fas, TNF receptor の感受性が亢進していた。また, Nrf2 欠損型マウスは野生型マウスに比べ肝臓 GSH 量が低下していた。Nrf2 欠損型マウスの Fas, TNF receptor の感受性亢進は GSH-0Et 添加によりほぼ消失した。

#### (考察)

以上の結果より, 試験管内に取り出した Nrf2 欠損型胸腺細胞は細胞内 GSH の低下を介して Fas の感受性が亢進していると考えられた。また, 個体においても, Nrf2 欠損型マウスは細胞内 GSH の低下を介して, Fas, TNF receptor の感受性が亢進していると考えられた。これらのことから, Nrf2 は細胞内 GSH 濃度を制御することにより death signal からのアポトーシスの感受性を制御していると結論された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は転写因子 Nrf2 がアポトーシスの制御に関与することを初めて明らかにしたものである。著者は細胞内の主要な抗酸化物質であるグルタチオンが低下すると Fas 等の細胞死受容体の感受性が亢進することをグルタチオン合成阻害剤を用いて確認した上で, Nrf2 欠損マウスを用いて試験管内と個体レベルの両方で Nrf2 がグルタチオン濃度を介してアポトーシスを制御していることを明示した。アポトーシスのどの過程で制御を行っているのか, また, グルタチオンの代謝回転とレドックス状態がどのように関わるのか, などが今後の課題であるが, Nrf2 の機能の新たな側面を明らかにしたものとして高く評価できる。

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。