

森 麗 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Derlin-1 過剰発現は変異SOD1 蓄積軽減により小胞体ストレスを軽減する
(Exogenous Derlin-1 ameliorates endoplasmic reticulum stress by reduction of mutant SOD1 accumulation)

SOD1 変異によっておこる家族性 ALS のモデルマウスでは、週齢依存のおよび組織特異的に変異 SOD1 蛋白質が運動ニューロンの小胞体(ER)内に蓄積しており、その結果運動ニューロンが ER ストレスによって、アポトーシスを来すことが明らかとなっている。申請者らは、この ER 内への変異 SOD1 蛋白質の選択的な蓄積が、運動ニューロン変性のトリガーとなっている可能性に着目し、小胞体関連分解(ERAD)に関連する分子が変異 SOD1 蛋白質の発現に及ぼす影響について検討し、それらの遺伝子を家族性筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療の開発へと応用させることを目的として研究を行った。

小胞体膜に局在する Derlin-1 は、近年、ミスフォールディング蛋白質の retrotranslocation の中心的局面を担うことが明らかにされている。野生型および変異型 SOD1 を発現する神経細胞において、Derlin-1 を過剰発現することによって、変異 SOD1 蛋白質の発現に及ぼす影響を観察し、変異 SOD1 蛋白質によって引き起こされる ER ストレスによる毒性の軽減効果、および変異 SOD1 蛋白質の小胞体内蓄積軽減効果について検討を行った。Derlin-1 および SOD1 (WT, G93A, G85R)を NB2a 細胞に共発現すると、Derlin-1 は野生型および変異 SOD1 (G93A, G85R)ともに共局在を示した。野生型および変異型 SOD1 安定発現細胞株に対する細胞死・細胞生存における評価を、顕微鏡を用いた核での apoptosis 変化の観察、MTT assay により評価したところ、外因性 Derlin-1 の発現により、変異 SOD1 の毒性が軽減され、細胞活性が改善していた。さらに、これらの細胞由来の ER を含む、マイクロゾーム分画では、BiP、サイトゾール分画では ATF6、CHOP などの unfolded protein response (UPR)の活性化軽減がみられた。興味深いことに、野生型および変異型 SOD1 の一過性発現細胞および安定発現細胞株の両者に対して、細胞内 SOD1 含量の低下をもたらしたが、TaqMan Real-time RT PCR での検討では、Derlin-1 の過剰発現による SOD1 の mRNA レベルに対する影響はみられなかった。マイクロゾーム分画では、野生型および変異型 SOD1 安定発現細胞において有意に SOD1 含量の低下がみられた。以上の結果から、外因性 Derlin-1 発現は、変異 SOD1 蛋白質の mRNA レベルの低下をさせるのではなく、プロテアソームやオートファジーによる分解を促進することによって変異 SOD1 蛋白質の代謝回転を調節している可能性が示された。

審査では、Derlin-1 強制発現により過剰に SOD1 を低下させたときの生理機能に与える影響、オートファジーの関与の検証に用いたメチルアデニンの特異性、変異 SOD1 の処理機構としてオートファジーとプロテアソームの相対的な関与、活性中心にある Zn の役割、motor neuron が選択的に傷害される理由、実験に neuro2a 細胞を選んだ理由、Derlin-1 と SOD1 のヒトでの共局在の検証、他神経疾患での Derlin-1 の関与、Derlin-1 による治療を患者に行った折の予測される現象およびその妥当性、遺伝子治療の可能性、Derlin-1 の局在や機能などについて質問がなされ、申請者より適切な回答がなされた。

本論文は、未だに根治療法のない ALS にあって、変異 SOD1 における Derlin-1 の役割を明らかにすることを通して、本疾患の病因論に迫り、治療に導く知見のひとつとして評価でき、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 病態情報解析学担当教授

安東由喜雄

審査結果

学位申請者名: 森 麗

専攻分野: 神経内科学

学位論文題名:

Derlin-1 過剰発現は変異SOD1 蓄積軽減により小胞体ストレスを軽減する
(Exogenous Derlin-1 ameliorates endoplasmic reticulum stress by reduction of mutant SOD1 accumulation)

指導: 内野 誠 教授

判定結果:

可 不可

不可の場合: 本学位論文名での再審査

可 不可

平成 23 年 2 月 1 日

審査委員長 病態情報解析学担当教授

安東 由喜雄

審査委員 微生物学担当教授

赤池 孝章

審査委員 医療情報医学担当教授

宇宿 功市郎

審査委員 神経精神科学担当教授

池田 学