

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 王 光輝

本研究は CAG リpeat病のひとつ Machado-Joseph 病 (MJD) (別名: 脊髄小脳失調症 3 / SCA3) をモデルとして、CAG リpeat病の発症機構を生化学的に解明するために、MJD の遺伝子産物である ataxin-3 に対する抗体を用いたイムノブロット解析や、遺伝子導入法による解析を行った。また、ataxin-3 の正常機能を同定するために two-hybrid system を用いて ataxin-3 と結合するタンパク質のスクリーニングを行い、下記の結果を得ている。

1. MJD 遺伝子産物の同定: ataxin-3 を特異的に認識するモノクローナル抗体を作成した。これらの抗体を用い、イムノブロットにより ataxin-3 は正常なリンパ芽球細胞において約 50kDa のタンパク質であることを同定した。正常なアレルの産物間での電気泳動の移動性の違いは、C 末端における多型性とポリグルタミン鎖長による分子量の違いに一致する。さらに MJD サンプルでは約 60kDa の移動度の遅いバンドが同定された。このバンドは伸長したアレルの産物である。

2. 伸長したポリグルタミンによる細胞死: MJD における細胞死の機序を解明するために、全長の ataxin-3, ataxin-3 変異体, 正常なポリグルタミンと伸長したポリグルタミンをそれぞれを含んだ ataxin-3 の C 末端側断片を遺伝子導入により発現した。ataxin-3 変異体と伸長したポリグルタミンを含む ataxin-3 変異体の C 末端断片は核内封入体を形成し、細胞死を引き起こした。このことから伸長したポリグルタミンを含む ataxin-3 変異体の C 末端側断片は病理変化を生じるのに十分であることが示唆された。

3. ataxin-3 の機能探索: ataxin-3 の正常機能を同定するために、two-hybrid system を用いて ataxin-3 と結合するタンパク質のスクリーニングを行い、酵母 DNA 修復タンパク質 RAD23 の 2 つのヒトホモログである HHR23A, HHR23B と ataxin-3 が結合することを発見した。さらに ataxin-3 は HHR23 タンパク

質の N 末端にある DNA 修復に重要な ubiquitin-like(UBL)ドメインと結合することを確認した。しかし ataxin-3 は ubiquitin と結合しないため、この特異的な結合を通じて ataxin-3 は HHR23 タンパク質と機能面で関連していることが示唆される。ataxin-3 タンパク質の正常体と変異体では HHR23 タンパク質との結合能に差は見られない。しかし 293 細胞において、HHR23A はこの結合によって ataxin-3 変異体の核内封入体に集積する。また HHR23B もこの結合によって MJD の剖検脳において核内封入体に集積することを確認した。これらの結果からこの結合は ataxin-3 の正常な機能と関連していること、MJD において HHR23 タンパク質の機能異常が存在する可能性が示唆された。

以上、本論文は ataxin-3 を特異的に認識するモノクローナル抗体を作成して、MJD の遺伝子産物 (ataxin-3) を同定し、伸長したポリグルタミンにより細胞死が引き起こされること、DNA 修復タンパク質 (HHR23) が ataxin-3 に結合することなどを明らかにした。本研究は、伸長したポリグルタミンによる細胞死の特徴の生化学的・病理学的な解明に大きく貢献し、学位の授与に値するものと考えられる。