

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 作道 章一

プリオン病は、ヒトにおける Creutzfeldt-Jakob 病、Gerstmann-Straussler-Scheinker 症候群、致死性家族性不眠症や動物におけるスクレイピー、牛海綿状脳症などのプリオンが病因因子である致死的な神経変性疾患の総称である。異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})が宿主に存在する正常型プリオン蛋白質(PrP^C)を変換することにより、細胞内で PrP^{Sc}の蓄積と PrP^Cの欠乏が起き、プリオン病は発症するものと考えられている。

申請者は、PrP^Cの欠乏がプリオン病の原因の一つであるため、PrP^Cの機能を知ることがプリオン病の病態解明に重要であると考えた。プリオン蛋白質 (PrP) 遺伝子 (*Prnp*) ノックアウトマウス海馬由来不死化神経細胞株は無血清培地下においてアポトーシスを起こし、*Prnp*の再導入によりアポトーシスが抑制されることが報告されている。そこで、本研究では PrP^Cのアポトーシス抑制機構の解明を目的とし、PrP^Cが銅恒常性維持および酸化防御機能を持つことにより、アポトーシスを抑制することを明らかにした。

第一章では、*Prnp*欠損神経細胞の血清除去により誘導される細胞死が活性酸素の発生を原因とし、ミトコンドリアのアポトーシス誘導経路を経て細胞死が誘導される可能性を証明するために、活性酸素を消去する酵素である Cu/Zn Superoxide dismutase (SOD) 遺伝子 (*SOD-1*)およびミトコンドリアのアポトーシス誘導経路を抑制することで知られる *bcl-2*、*bcl-xL* 遺伝子の過剰発現によって無血清培地下での *Prnp*欠損神経細胞の細胞死を解析した。その結果、*Prnp*欠損神経細胞株の無血清培地下での細胞死は *SOD-1* 遺伝子の過剰発現により抑制されたことから、細胞内活性酸素の発生が細胞死の原因の一つであり、*Bcl-2* や *Bcl-xL* が抑制できるミトコンドリアの関与するアポトーシス誘導経路を介していることが示唆された。

第二章では、PrP^Cが活性酸素の消去および細胞内銅量の調節に関わっている可能性について検討するため、PrP^C非発現・再発現 *Prnp*欠損神経細胞の SOD 活性、活性酸素量および細胞内銅量の測定を行った。その結果、*Prnp*の再導入により Cu/Zn SOD の産生量に変化は見られなかったが、SOD 活性の有意な上昇が見られた。そして、*Prnp*欠損神経細胞で見られる活性酸素の発生が *Prnp* 遺伝子再導入株では抑制されていることが示された。さらに、活性酸素の発生が観察される血清除去 6 時間において、PrP^C非発現 *Prnp*欠損神経細胞株の細胞内銅量低下が観察されたが、PrP^C再発現 *Prnp*欠損神経細胞株は細胞内銅量の有意な低下はなく、PrP^C発現により血清除去により誘導される細胞内銅量低下が抑制されることが示唆された。以上の結果から、PrP^Cは細胞内 SOD 活性を上昇させることにより活性酸素を消去し、血清除去による細胞死を抑制していることが示唆された。また、PrP^Cは細胞内銅濃度の維持に役割を果たしており、これが SOD 活性の制御に関わる可能性が考えられた。

第三章では、PrP^CがSOD活性を制御する機構について調べるため、さまざまな領域を欠損させたPrP^C発現細胞やStress-inducible protein 1(STI1)-PrP^C結合阻害ペプチドを用いた。その結果、PrP^C依存的SOD活性化にはSTI1がPrP^Cの疎水性領域に結合することとPrP^Cのオクタリピート領域が存在することの両方が重要であることが示唆された。

本研究では、①細胞内活性酸素の発生が*Prnp*欠損神経細胞株の血清除去による細胞死に重要であること、②PrP^CがSOD活性を上昇させることで活性酸素を消去し、細胞死を抑制すること、③PrP^Cの発現が血清除去による細胞内銅量低下を抑制すること、④PrP^C依存的SOD活性化にはSTI1の結合およびオクタリピート領域の存在が重要であることを明らかにした。これらの結果により、PrP^Cは抗酸化防御能および銅恒常性維持能を持つことで、細胞の生存維持に関わることが示唆された。本研究で得られたPrP^Cの機能に関する知見は、PrP^Cの欠乏が原因の一つであるプリオン病の病態解明や治療につながるという点で重要であると考えられる。

したがって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。