

## 審査の結果の要旨

氏名 河原 行郎

本研究は、孤発性筋萎縮性側索硬化症(ALS)脊髄運動ニューロンにおける選択的神経細胞死のメカニズムを解明するため、興奮性神経細胞死仮説に基づき、単一細胞レベルで、イオンチャネル型グルタミン酸受容体サブタイプであるAMPA受容体の分子変化について解析し、さらにその変化のコントロールメカニズムについて追求したものであり、下記の結果を得ている。

前半では、凍結剖検ヒト脳脊髄組織や、そこからレーザーマイクロダイセクターを使って切り出した単一神経細胞を用いて、定量RT-PCR法によってmRNA発現量を定量し、部位別・神経細胞別のAMPA受容体サブユニットの定量的発現プロファイルを作成した。この結果から、mRNAレベルにおけるGluR2サブユニットを含んだAMPA受容体密度は、脊髄運動ニューロンで最も低いことが示され、このため他の神経細胞と比べ、遅発性興奮性細胞死に脆弱であると考えられた。

またALS脊髄運動ニューロンにおいては、GluR2サブユニットを含んだAMPA受容体密度自体は、正常対照群と比較して変化はないが、GluR2 Q/R部位のRNA編集率が、疾患特異的・細胞選択的に低下していることを示し、Ca<sup>2+</sup>透過性AMPA受容体の密度が相対的に増加することによって神経細胞死を促進するものと考えられた。

後半では、ALS脊髄運動ニューロンにおけるGluR2編集低下のメカニズムを解明するため、編集率と編集酵素ADARsの発現レベルとの関連を解析した。

まず、正常ヒト脳脊髄組織において、様々な部位におけるGluR2 Q/R部位の編集率を、GluR5, GluR6 Q/R部位と共に定量し、同時にADARs mRNAの定量的発現プロファイルを作成し、両者を比較検討した。この結果、灰白質組織と比較し、白質組織におけるGluR2編集率は、GluR5, GluR6編集率と同様に、有意に低いことを示した。

[別紙 2]

またGluR2 Q/R部位に編集活性を示すADAR2 mRNAの発現量や、GluR2 mRNAに対する発現比率も、白質で有意に低いことが示され、RNA編集効率は、編集酵素と基質との発現比率によって規定されている可能性が考えられた。

さらにALS脊髄前角におけるADAR2 mRNAの発現量は、正常対照群と比較して部位特異的に低下しており、またGluR2 mRNAに対する発現比率も低下傾向にあることが示された。したがって、ALS脊髄運動ニューロンにおけるGluR2 Q/R部位の編集異常は、編集酵素発現量の調節メカニズムの異常によって生じている可能性が考えられた。

以上、本論文は、原因不明の難病 ALS の脊髄運動ニューロンに、疾患特異的・細胞選択的に、AMPA 受容体サブユニット RNA 編集異常が生じていることをはじめて明らかにし、その原因として編集酵素の発現調節メカニズムの異常が生じている可能性を示した。特に前半部分は、ALS の病態解明に向けて重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。