

論文審査の結果の要旨

氏名 日野 成実

ミトコンドリア病は、患者数の最も多い遺伝子病であるにも関わらず、原因遺伝子変異が多様であることから、分子機構も様々であることが予想されており、明確な発症機構が未解明な疾患である。現在、有効な治療法もない。

本論文では、ミトコンドリア病発症の分子機構の解明、新規治療法開発への寄与を期待して、ミトコンドリア病を発症させるミトコンドリア(mt) tRNA と rRNA の変異による分子機構の研究を行なっている。

序章では、ミトコンドリア病の症状や原因遺伝子変異についての概論を述べている。

第1章は、mt tRNA 遺伝子変異による疾患の分子機構について述べている。ミトコンドリア病を発症させる mt tRNA 遺伝子変異の中には、tRNA のプロセッシング、転写後修飾、CCA 配列付加、アミノアシル化を阻害するものが報告されている。本論文では乳児致死性心筋症患者で見出された mt tRNA^{Ile} 遺伝子の A4269G 変異について解析を行なっている。まず上記のステップのなかで、未解析であった部分の解析を行ない、とくに大きな阻害が見られないことを示している。そこでこの変異が及ぼす影響について、さらに詳細な解析を行なっている。その結果、この変異は tRNA の構造、特に T-システムを不安定化させる事が示されている。そしてこの構造変化はヌクレアーゼによる分解を促進すること、伸長因子 EF-Tu との結合能を低下させることを明らかにしている。またこれらの実験結果をふまえ、発症機構について考察を行なっている。

第2章は mt rRNA 遺伝子変異による疾患の分子機構について述べている。本論文で述べられている 12S rRNA 遺伝子の A1555G 変異については、多くのアミノグリコシド(AG)誘導性難聴患者から報告されており、発症機構の解明が強く期待されている。本論文ではまず核 DNA の影響を排除できる、核を HeLa 核に置き換えた人工融合細胞サイブリドを使った解析を行なっている。そして A1555G 変異が AG であるストレプトマイシン(SM)やゲンタマイシン(GM)に対する感受性を高める効果があることを示している。またこの変異があると SM によって、ミトコンドリア蛋白質合成能が低下し、さらに誤翻訳が誘導されやすいことを示し、それに付随してミトコンドリア蛋白質の定常状態量の低下、ミトコンドリア呼吸鎖酵素活性の低下も見出している。後半では A1555G と AG が引き起こす分子機構についてより詳細に解析するために大腸菌を難聴患者のモデル生物と見立てた実験について述べている。A1555 位は大腸菌では 1491 位にあたり、大腸菌野生株においてこの部位は G で AG 感受性を示す。つまり大腸菌野生株は遺伝型、表現型ともに難聴患者タ

イプといえる。そこで健常者モデルの大腸菌 G1491A 変異株を作製し、あわせて解析を行なっている。その結果、健常者モデルである G1491A 変異株は難聴患者モデルである野生株と比較して、AG 感受性が緩和されており、SM や GM による誤翻訳誘導も低く抑えられていることを示している。

AG と原核生物のリボソームの構造解析から、AG はリボソームのデコーディングセンターと呼ばれるコドン-アンチコドン対合の場に結合するが、rRNA の A1555 位にあたる部位やリボソーム小サブユニットの構成成分である S12 蛋白質もまたこの部位に位置している。またいくつかの S12 遺伝子変異は AG 耐性変異として報告されている。本論文ではこれらの知見から、A1555G 変異による AG 感受性の向上を核にコードされた mt S12 蛋白質の変異によって緩和できないかと考え、このことを大腸菌をモデル生物として検証している。その結果、AG 耐性に寄与すると考えられる変異を導入した mt S12 蛋白質を発現させた大腸菌では AG 感受性の緩和が示された。現在はミトコンドリア DNA を直接操作することは不可能であるため、遺伝子治療の可能性は開けていない。本論文では、mt DNA にコードされた rRNA の A1555G 変異による AG 感受性の向上を、核にコードされた mtS12 蛋白質の改変によって相補できる可能性を示しており、今後治療法開発に寄与するものと期待される。

終章では、本論文の 2 つの遺伝子変異についての分子機構の解析についての総括を述べている。

以上、本論文は 2 つのミトコンドリア病を発症させる mt RNA 変異がもたらす詳細な分子機構の解析を述べたもので、発症の分子機構解明と、治療法開発に大きく寄与すると考えられる。

なお、本論文第 1 章は、鈴木 勉氏、安川 武弘氏、清尾 康志氏、渡辺 公綱氏、上田 卓也氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。