

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 亀山 祐美

本研究は、常染色体劣性遺伝性若年性パーキンソニズム (AR-JP) の原因遺伝子 Parkin の機能異常の際に蓄積する Pael-R (Parkin-associated endothelin receptor-like receptor) を強制発現させたショウジョウバエを用いた研究である。Pael-R 強制発現による運動機能低下と神経細胞死を抑制するメカニズムを解明するために、酸化ストレス説、ユビキチン・プロテアソーム系異常説に基づき、チオレドキシシン (TRX) の作用を追求したもので下記の結果を得ている。

1. ショウジョウバエ TRX 蛋白の生化学的な性状については、まだ十分明らかにされていない。酸化還元を担うレドックス活性の測定には、Insulin disulfide reduction assay 法を、シャペロン活性の測定は Citrate synthase assay 法を用いて行ない、ショウジョウバエ TRX (TrxT) に還元能とシャペロン活性があることをはじめて明らかにした。

2. ショウジョウバエ TRX は、すでに報告されている野生型 3 種類 (*Dhd*, *Trx-2*, *TrxT*) を用い強制発現系を作成し、レドックス機能欠損変異体として、35 番目のシステインをアラニンに置換した TrxT[C35A]、および 26 番目のアスパラギン酸と 57 番目のリジンをそれぞれアラニンとイソロイシンに置換した TrxT[D26A/K57I] を作製した。

Pael-R をショウジョウバエの神経に発現させると、ドーパミン作動性神経が減少することはすでに報告されていたが、本研究で、加齢に伴い運動機能が低下する表現系を初めて見つけた。

Pael-R 強制発現系に TRX を作用させたところ、野生型 TRX だけでなく、レドックス機能欠損変異体 TRX でも、加齢に伴う運動機能低下やドーパミン

作動性神経の減少を抑制することが確認された。

3. 培養細胞系において、野生型 TrxT とレドックス機能欠損変異体蛋白 (TrxT[C35A]、TrxT[D26A/K57I]) を形質転換し、過酸化水素による酸化ストレスを加えた。野生型 TrxT と同様にレドックス機能欠損変異体でも細胞生存率の上昇がみられた。

これらの結果から、Pael-R による運動機能低下やドーパミン作動性神経の減少の抑制には、TRX のレドックス機能はあまり重要ではなく、シャペロン活性を含む TRX のほかの作用が重要な機能をはたしていることを示唆する結果と考えられた。

以上、本論文は、ショウジョウバエにおいて、Pael-R の神経変性を抑制する TRX の作用を初めて明らかにし、そのメカニズムとしてレドックス機能が重要ではないことを初めて証明した論文である。この結果は、Pael-R による神経変性だけでなく、孤発型パーキンソン病や他の神経変性疾患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。