

論文審査の結果の要旨

氏名 桐野 陽平

本論文はミトコンドリア (mt) tRNA の変異が原因で発症するミトコンドリア病において、ミトコンドリア機能低下の分子メカニズムを明らかにしたものである。

脳卒中が主症状である MELAS は mt tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子内の点変異が原因であることが報告されており、また mt tRNA^{Leu(UUR)} にはそのアンチコドン 1 字目に、転写後修飾ウリジンである 5-タウリノメチルウリジン ($\tau\text{m}^5\text{U}$) が存在することがわかっている。本論文ではプライマー伸長法を用いて、微量な全 RNA 画分から簡便に mt tRNA^{Leu(UUR)} のアンチコドン 1 字目のタウリン修飾の有無を解析する方法を確立した。更にこの解析法を用いて実際の患者生検組織を用いたタウリン修飾の解析に成功し、MELAS 患者由来の 5 種類の変異を有する mt tRNA^{Leu(UUR)} は全てタウリン修飾を欠損しており、ミオパチーなど他のミトコンドリア病患者由来の 4 種類の変異を持つ mt tRNA^{Leu(UUR)} はタウリン修飾を欠損していないことを明らかにした。したがって本論文により、MELAS というミトコンドリア病の一臨床病型と変異 mt tRNA^{Leu(UUR)} のタウリン修飾欠損が明確に関連付けられることが示された。また、タウリン修飾を欠損した mt tRNA^{Leu(UUR)} は、対応する 2 つのコドン (UUA, UUG) のうち UUG コドンのみを特異的に翻訳できないことも本論文で明らかになり、タウリン修飾を欠損した変異 mt tRNA^{Leu(UUR)} による UUG コドン特異的な翻訳阻害が MELAS の根本原因であることが示された。糖尿病と難聴が特徴の MIDD においては、mt tRNA^{Glu} 遺伝子中の T14709C 変異が原因である症例が報告されているが、本論文ではこの T14709C 変異 mt tRNA^{Glu} においても本来存在するアンチコドン 1 字目のタウリン修飾 ($\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$) が欠損していることを明らかにした。また、この変異 tRNA は対応しないアスパラギン酸のコドンを誤翻訳し、この異常な翻訳活性が MIDD のケースにおいてもミトコンドリア病機能低下の根本原因であることが示された。更に様々な変異 tRNA の構造および機能の解析により、最終的に本論文では 5 種の mt tRNA における計 12 種類のミトコンドリア病原因変異が、アンチコドン 1 字目のタウリン修飾をはじめとする様々な塩基修飾を欠損させることで mt tRNA の機能を阻害し、ミトコンドリア機能低下に中心的な役割を果たしていることを証明した。

ミトコンドリア病変異 mt tRNA における修飾欠損は、tRNA 修飾酵素が変異 tRNA の異常構造を認識できないことに起因すると考えられるが、本論文ではヒト mt tRNA のアンチコドン 1 字目の 2-チオ化を触媒する酵素である hMTU1 の組み換えタンパク質を複製し、mt tRNA の *in vitro* 2-チオ化の系を確立した。この系を用いて、hMTU1 の mt tRNA 認識機構の一端を明らかにし、ミトコンドリア病における修飾欠損は修飾酵素が異常構造を有する変異 mt tRNA を認識できないことに起因することが、実験的に検証された。

本論文における以上の解析は RNA 修飾の欠損がヒト疾患発症の直接的原因となる初

めての例であるが、このことはヒト疾患発症の原因究明においてタンパク質や mRNA の量的変化のみならず、機能性 RNA の質的变化を解析する必要性を強く示している。

なお、本論文は多くの研究グループとの共同研究によりなりたっている。国立精神・神経センターの後藤雄一博士、日本医科大学の太田成男博士、明楽重夫博士、石原楷輔博士、国立療養所犀潟病院の巻淵隆夫博士と福原信義博士、スペイン国立病院の Joaquin Arenas 博士と Yolanda Campos 博士からはミトコンドリア病患者組織およびモデル細胞の恵与を受けている。タンペレー大学の Howard T. Jacobs 博士、ニューカッスル大学の Rob W. Taylor 博士、イタリア国立神経病院の Massimo Zeviani 博士、コロンビア大学の Michio Hirano 博士にはミトコンドリア病モデル細胞の恵与を受けている。しかしながら、本論文の一連の解析は共同研究者の材料の恵与を受けながら、論文提出者が主体となって行ったものであり、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。