

学位論文の審査結果の要旨

ハンチントン病（HD）は致命的な進行性の神経変性疾患であり、ハンチンチン（HTT）タンパク質をコードする遺伝子の最初のエクソンにCAG反復の伸展を持つ。この変異HTTタンパク質は特に神経細胞内において核内凝集体を形成し、様々な他のタンパク質を巻き込み、細胞機能不全を引き起こす。本論文はHDにおいて変異HTTが形成する伸展ポリグルタミン凝集体の構造学的性質や変異HTTがタンパク質相互作用に与える影響について以下の新たな知見を示した。

HD関連の疾患症状を減弱させるために、RNA阻害（RNAi）を介したHTT発現抑制が提案され、効果が報告されているが、HDモデルマウスの疾患症状発症後におけるRNAi治療の有効性は証明されていない。本研究では神経症状発症後のRNAi治療の有効性について、HDモデルマウスを用いて調べた。その結果、不溶性タンパク質の蓄積やHD関連遺伝子の発現低下などの神経病理学的異常が、RNAi治療によって緩和されたことを示した。また神経細胞核内凝集体の数はRNAi導入時点の凝集体数よりもさらに少なかったことから、RNAiによる病因遺伝子発現阻害が、既存の凝集体の分解に有益であることが明らかとなった。また、HDモデルマウスにおける関連遺伝子発現抑制の緩和が見られた。本研究の成果は、神経症状発症後におけるRNAi導入が、病気の進行を阻害するだけでなく病理症状を改善させる効果があり、治療として有効である可能性を示唆した。

HDではHTT凝集体は脳全体に観察されるが萎縮や神経脱落は線条体においてのみ顕著に観察される。このような部位特異性は神経変性疾患の分野における重要な論点の一つである。本研究はこの部位特異的な細胞障害は、伸展ポリグルタミンを含むHTTアミロイドが部位によって異なるアミロイド構造を形成し、構造依存的な細胞毒性を示すためであることを明らかにした。また、HDモデルマウス脳におけるHTT凝集体が脳部位特異的な構造を示し、異なる細胞毒性を示すことを証明した。

HD疾患脳において減少するcAMPを分解するPDE4は、鬱や不安のような精神状態を調節する。このPDE4と直接的な相互作用するタンパク質DISC1は、HTTおよびHTT結合タンパク質と相互作用する。本研究は、HTTがDISC1およびPDE4とタンパク質複合体を形成し、変異HTTの凝集がDISC1-PDE4相互作用の障害を引き起こすことを明らかにした。すなわち、変異HTTとDISC1の結合による可溶性DISC1の減少がDISC1-PDE4複合体の制御障害をもたらし、PDE4活性の異常な亢進を誘導することを示した。さらに、HTT結合領域欠損DISC1導入はPDE4活性を正常化し、マ

ウスモデルの精神疾患症状を緩和させたが、運動障害は改善されなかった。このことから変異HTTとDISC1のクロスシーディングやPDE4活性の結果として生じる変化が、HDの精神症状徴候の特異的な一部の病理の基礎になっている可能性があることを示唆した。

以上の成果より、HDおよび凝集体形成を病理症状に含む神経変性疾患に対する新しい治療戦略を提案した。さらに本研究から、不溶性になりやすいミスフォールドしたタンパク質における選択的な相互作用が、精神医学的徴候を含む脳機能不全の多くの局面に当てはまる可能性が示された。

審査委員会はこれらの成果が査読付き国際英文誌の原著論文3編として公表されており、申請者は大学院博士課程修了者と同等の学力および英語力を有していることを確認した。以上踏まえ審査委員会は、本論文は博士論文として十分な内容を有するものであると判断し、「合格」と判断した。

公表主要論文名

- Motomasa Tanaka*, Koko Ishizuka*, Yoko Nekooki-Machida*, Ryo Endo, Noriko Takashima, Hideyuki Sasaki, Yusuke Komi, Amy Gathercole, Elaine Huston, Kazuhiro Ishii, Kelvin Kai-Wan Hui, Masaru Kurosawa, Sun-Hong Kim, Nobuyuki Nukina, Eiki Takimoto, Miles D. Houslay, Akira Sawa (2017). Aggregation of scaffolding protein DISC1 dysregulates phosphodiesterase 4 in Huntington's disease. *J. Clin. Invest.*, 127(4):1438-1450. *co-first author.
- Yoko Nekooki-Machida, Masaru Kurosawa, Nobuyuki Nukina, Kazuki Ito, Toshiro Oda, Motomasa Tanaka (2009). Distinct conformations of in vitro and in vivo amyloids of huntingtin-exon1 show different cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106(24):9679-9684.
- Yoko Machida, Takashi Okada, Masaru Kurosawa, Fumitaka Oyama, Keiya Ozawa, Nobuyuki Nukina (2006). rAAV-mediated shRNA ameliorated neuropathology in Huntington disease model mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 343(1):190-197.