

氏名	猫 沖 陽 子
学位の種類	博士 (農 学)
学位記番号	乙 第 19 号
学位授与の日付	平成30年 3月 20日
学位授与の要件	信州大学学位規程第5条第2項該当
学位論文題目	ハンチントン病における凝集体形成に関する研究
論文審査委員	主査 教授 小野 珠乙 教授 平松 浩二 教授 鏡味 裕 教授 米倉 真一 准教授 笹浪 知宏 (静岡大学・農学部)

論 文 内 容 の 要 旨

ハンチントン病 (HD) はハンチンチン (HTT) 遺伝子に含まれる CAG 反復配列が異常伸長することで引き起こされる、致死性の神経変性疾患である。神経症状として舞踏運動に代表される不随意運動や認知異常、鬱や人格変化が、また組織学的症状として脳線条体の萎縮と神経細胞の脱落、神経細胞内における凝集体の形成が観察される。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。

(1) AAV を介した shRNA 導入によるハンチントン病モデルマウスの病理症状の緩和

変異遺伝子転写物を分解することにより遺伝子発現を消失させる RNAi 技術は神経変性疾患の治療の直接的なアプローチとしてその有効性が報告されている。しかし、既出の研究では神経症状の発症後に治療を試みた例がない。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、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 RNAi 導入後の神経細胞核内凝集体の数が 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も有益であることが明らかとなった。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。

(2) ミスフォールディングによるハンチンチンエクソン 1 アミロイドの構造の違いが異なる細胞毒性を示す

HTT 凝集体形成は HD モデルマウスや HD 患者の脳全体に認められるが、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。本研究では、細胞障害が脳部位特異的に発症する現象が、変異 HTT タンパク質の立体構造の違いに起因することを示唆した。異なる温度で形成された HTT タンパク質は構造の異なるアミロイドにフォールディングし、異なる細胞毒性を示した。HTT タンパク質はシーディングにより凝集促進され、シードに依存した構造を示した。HD モデルマウス脳においても HTT 凝集体は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。この成果により変異 HTT 凝集体の細胞毒性は HTT 凝集体の立体構造に因ることが示唆された。

(3) ハンチントン病における DISC1 の凝集による PDE4 の調整不全

HD は鬱を含む非運動性機能障害によっても特徴づけられる。本研究は鬱や不安のような精神状態を調節する PDE4 と、PDE4 と相互作用するタンパク質 DISC1 が、HTT とタンパク

質複合体を形成することを明らかにした。また、変異 HTT と DISC1 の共凝集による可溶性 DISC1 の減少が DISC1-PDE4 複合体形成障害を引き起こし、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 導入により HD マウスモデルの PDE4 活性を正常化し精神疾患症状を一部緩和させたが、運動障害は改善しなかった。

以上の成果より、変異 HTT の凝集体形成が HD の疾患症状発症に多様なメカニズムを介して関与していることを明らかにした。また、それぞれの作用機序に適応した治療戦略による疾患症状の緩和もしくは改善の可能性を示唆した。