

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 131 号	学位申請者	笠毛 友揮
審査委員	主査	橋口 照人	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	宮田 篤郎	副査 高嶋 博
	副査	中村 雅之	副査 田川 義晃

1,5-Anhydro-D-Fructose Protects against Rotenone-Induced Neuronal Damage In Vitro  
Through Mitochondrial Biogenesis

(1,5-アンヒドロ-D-フラクトースはミトコンドリアの生成を介して、In vitro での  
ロテノンによる神経細胞の損傷を防ぐ)

ミトコンドリアの機能異常や量的低下は、パーキンソン病 (PD) の最も妥当な発症メカニズムの一つと考えられており、ミトコンドリア複合体阻害剤は実験的 PD の開発によく用いられている。学位申請者らは、様々な細胞毒性物質に対する保護作用を持つ単糖類である 1,5-anhydro-D-fructose (1,5-AF) に着目した。ロテノンを用いてパーキンソン病の in vitro 細胞モデルを作成した後、これらのモデルを用いて 1,5-AF の細胞保護効果を検証し、さらに保護作用のメカニズムについて解析した。細胞には PC12 とマウス初代神経細胞を用いロテノン投与下で 1,5-AF、1,5-AG、メトホルミンを投与し MTT assay、Calcein 染色、抗 MAP2 免疫蛍光染色で細胞の生存率、形態を解析した。イムノブロットィング、PGC-1 $\alpha$  のアセチル化 assay で 1,5-AF による PGC1 $\alpha$  と AMPK の活性化を評価した。PGC-1 $\alpha$  をサイレンシングし、1,5-AF のロテノン投与下での細胞生存率に与える影響を MTT assay で評価した。ミトコンドリアの解析には、ミトコンドリア量を MitoTracker で解析し、ATP assay で細胞内 ATP 量を評価した。さらに、PGC-1 $\alpha$  をサイレンシングし 1,5-AF のロテノン投与下でのミトコンドリアに与える影響を MitoTracker で評価した。その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

1. 1,5-AF は、PC12 細胞や初代神経細胞において、ロテノン細胞毒性に対する保護作用がある。
2. 1,5-AF はロテノン投与の有無に関わらず初代神経細胞の樹状突起の長さを延長する。
3. 1,5-AF はロテノン処理した PC12 細胞で、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体- $\gamma$  共役分子 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) の発現を上昇させ、その脱アセチル化を促進するとともに、AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) のリン酸化を増加させる。
4. 1,5-AF 処理は、ロテノン処理した PC12 細胞のミトコンドリア活性を増加させる。
5. PGC-1 $\alpha$  をサイレンシングすると、1,5-AF の細胞保護作用およびミトコンドリアへの影響は抑制される。

本研究は、1,5-AF が AMPK の活性化を介して PGC-1 $\alpha$  を活性化し、ミトコンドリアの生合成作用と細胞保護作用をもたらすことを示した。PD の発症機序と考えられているミトコンドリア障害を保護する効果を単糖類である 1,5-AF に見出したことが興味深く、PD の治療薬としての可能性が期待される。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。