

論文審査の要旨

報告番号	総研第 249 号		学位申請者	田邊 史
審査委員	主査	谷本 昭英	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	高嶋 博	副査	宮田 篤郎
	副査	小賤 健一郎	副査	有田 和徳

Accumulation of p62 in degenerated spinal cord under chronic mechanical compression :
Functional analysis of p62 and autophagy in hypoxic neuronal cells

(慢性圧迫性脊髄変性に p62 が関与し、オートファジーは神経変性防御機構として働く)

慢性圧迫性脊髄症は脊髄への機械的圧迫・虚血・低酸素により不可逆的神経変性が起こるためとされている。手足のしびれ、巧緻運動障害、歩行障害などが進行した場合、有効な保存的治療はなく、手術的加療が施行されるのが現状である。近年アルツハイマー病など神経変性疾患において凝集蛋白の蓄積やオートファジーの変調が病因の一つであることが報告されている。p62 はオートファジー関連蛋白で、ポリユビキチン化された異常蛋白を凝集化し LC3-II を介してオートファジーで分解されることが報告されている。そこで学位申請者らは、慢性圧迫性脊髄症においても凝集蛋白やオートファジーが神経変性変化に関与する可能性が示唆され検討した。

動物モデルとしては加齢とともに脊柱靭帯が骨化して頸髄を圧迫し、麻痺を自然発症する twy マウスを用いた。凝集蛋白やオートファジーに関連する蛋白群 (p62, LC3, ユビキチン) を免疫組織学染色、ウェスタンブロットで検討した。また twy マウスの頸髄圧迫部と胸髄非圧迫部を用い、電子顕微鏡によるオートファジーの形態学的評価を行った。慢性圧迫性脊髄症は脊髄の虚血・低酸素により脊髄変性が起こるとされるので、*in vitro* モデルとして低酸素条件下の神経細胞株 (MEB5, U251MG) を用いた。オートファジーや凝集蛋白に関与する蛋白群の発現をウェスタンブロット法にて評価した。p62 を強制発現させ、生細胞の酵素活性を利用した比色定量法 (WST アッセイ) にて、p62 の機能解析を行った。またオートファジー促進剤や抑制剤を投与し、WST アッセイにてオートファジーの機能解析を行った。

その結果、本研究で以下の知見が明らかとなった。

- 1) 頸髄圧迫部で神経細胞数減少、脱髄性変化が起こっていた。
- 2) 頸髄圧迫部で p62、ユビキチン化蛋白、LC3-II の発現が上昇していた。
- 3) p62 はニューロン、神経軸索、アストロサイト、オリゴデンドロサイトで蓄積していた。
- 4) 頸髄圧迫部でオートファゴソーム、オートリソソームを認めた。
- 5) 培養神経細胞に低酸素ストレスを加えると p62、ユビキチン蛋白、LC3-II の発現が上昇した。
- 6) p62 を培養神経細胞に強制発現させると細胞死が誘導された。
- 7) 薬剤 (3-メチルアデニン) にてオートファジーを抑制すると凝集蛋白 p62 が蓄積し、細胞死が誘導された。
- 8) 薬剤 (塩化リチウム) にてオートファジーを亢進させると凝集蛋白 p62 が減少し、細胞死が抑制された。

慢性圧迫性脊髄障害における不可逆的神経変性に凝集蛋白 p62 の蓄積が関与していることが明らかになった。また、オートファジーは神経細胞に生じた凝集異常蛋白を分解、細胞内浄化するための神経変性防御機構として働いていることが明らかになった。慢性圧迫性脊髄神経変性においてオートファジーの制御が新しい予防法、治療法につながる可能性が示唆された。

本研究は慢性圧迫性脊髄障害の凝集蛋白 p62 とオートファジーの発現を検討したものであり、その結果 p62 は神経変性の重要な因子であり、オートファジーの活性化が神経保護的に働くことを示した点で非常に興味深い。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。