

論文内容要旨

論文題目

家族性パーキンソン病ラットモデルにおいて、Ser129 のリン酸化は A53T 変異型 α -シヌクレインのドパミン神経細胞死を変化させる。

責任講座： 内科学第三 講座

氏名： 佐藤 裕康

【内容要旨】

【背景】 パーキンソン病は、病理学的に中脳黒質のドパミン神経細胞死とレビー小体の出現によって特徴づけられる。細胞質内封入体であるレビー小体は異常に凝集したタンパク質が沈着したものである。この異常に凝集したタンパク質の主要成分は α -synuclein である。 α -Synuclein トランスジェニックマウスモデルの解析から、 α -synuclein の凝集過程と神経細胞毒性が密接に関連していることが示されている。さらに、レビー小体に沈着した α -synuclein のほとんどは 129 番目の Ser 残基でリン酸化されていることが知られている。 α -synuclein のドパミン神経細胞毒性に対する Ser129 リン酸化の関与が注目されている。Ser129 リン酸化がドパミン神経細胞毒性に与える影響について、擬似リン酸化変異体 S129D α -synuclein を用いて動物モデルで検討されている。しかし、動物モデルの種類によって、細胞毒性に対するリン酸化の効果は相反する結果が報告されている。

【目的・方法】 本研究は、 α -synuclein Ser129 のリン酸化がドパミン神経細胞死に及ぼす影響を調べた。アデノ随伴ウイルス 2 を用いて、ラット中脳黒質に家族性パーキンソン病で同定された変異である A53T α -synuclein を過剰発現させたラットモデルを作製した。このラットモデルをベースに Ser129 をリン酸化させるキナーゼである G タンパク質共役型受容体キナーゼ (GRK) 6 を共発現させた場合、また S129A 変異を導入した A53T α -synuclein を過剰発現させた場合について、黒質線条体系のドパミン神経細胞死の変化を検討した。

【結果】 A53T α -synuclein を過剰発現させ 4 週間でドパミン神経細胞がほとんど脱落するラットモデルの作製に成功した。このラットモデルに GRK6 を共接種すると、ドパミン神経細胞にリン酸化 α -synuclein が増加した。細胞死を評価すると、Ser129 リン酸化は、 α -synuclein の神経毒性を接種 2 週目には有意に促進した。しかし、接種 8 週目においては α -synuclein の神経毒性は逆に抑制された。A53T/S129A α -synuclein の過剰発現では、A53T α -synuclein と比べドパミン神経細胞死に有意な変化を認めなかった。これらのラットにおいて、 α -synuclein の発現量に有意な差は認めなかった。

【考察】 Ser129 のリン酸化は α -synuclein の神経毒性を変化させた。その効果はリン酸化させることによって生じていた。Ser129 リン酸化は時間経過と共に α -synuclein の毒性を緩和させることから、リン酸化状態を修飾する治療の可能性が示唆される。このラットモデルを用いることによってパーキンソン病の病態の解明および治療法開発への寄与が期待される。

平成 22年 1月 8日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 佐藤 裕康

論文題目：家族性パーキンソン病ラットモデルにおいて、Ser129のリン酸化はA53T変異型 α -シヌクレインのドパミン神経細胞死を変化させる。

審査委員：主審査委員

比中 千史



副審査委員

藤井 聡



副審査委員

早 一 五 (下)



審査終了日：平成 22年 1月 6日

【 論文審査結果要旨 】

近年パーキンソン病の発症メカニズムとして α -synuclein (α S)の多量体化による中脳黒質ドパミン神経細胞障害が考えられるようになってきた。この多量体化に影響を及ぼす α Sの翻訳後修飾の一つに α SのSer129リン酸化が知られており、最近 α S Ser129 kinaseの一つGRK5のSNPが孤発性パーキンソン病発症リスクと関連することも明らかにされた。これらの知見は α S Ser129のリン酸化が多量体化の促進を介してパーキンソン病発症に関わっている可能性を示唆するものである。しかしながら、哺乳動物個体において実際にSer129リン酸化が α Sによる中脳黒質ドパミン神経細胞障害に影響を及ぼすか、という点については未だ結論が得られていないのが現状である。そこで本研究で佐藤裕康氏は、ラット生体においてGRK6によるSer129リン酸化が α Sによる黒質ドパミン神経細胞死に与える影響について検討を行った。

α Sとしては観察期間短縮のため多量体形成能が高くかつリン酸化による多量体形成能亢進が確認されているA53T変異体を用いた。この α S変異体及びさらにS129A変異を加えた変異体A53T/S129A、GRK6、GFP(コントロール)を発現するアデノ随伴ウイルスをラット中脳黒質細胞に感染させ、感染後1, 2, 4, 8週の時点でのドパミン神経細胞の生存率を抗チロシン水酸化酵素抗体による免疫染色にて評価した。

得られた主な知見としては、1) A53T α Sを発現させた場合、ドパミン神経細胞は4週にわたって減少を続け、以降は生細胞数に大きな変化は見られなかった。2) GRK6をA53T α Sと同時に発現(感染)させた場合、2週の時点ではGFPコントロール同時発現群に比して有意にドパミン神経細胞生存率が低く、逆に4, 8週の時点ではGRK6同時発現群で有意に生存率が高かった。3) 2)のA53T α Sに代えてA53T/S129A α Sを用いた場合、GRK6同時発現による2週の時点での生存率低下促進効果は減弱する傾向が認められた。

以上の結果は少なくともウイルスベクター感染後2週の時点まではGRK6がA53T α Sのリン酸化に依存する形でドパミン神経細胞死を促進している可能性を示唆するものである。一方、4, 8週の時点でGRK6がA53T α Sによる細胞死を抑制したことについては一見当初の作業仮説とは一致しない結果ではあるものの、その説明としてA53T α Sの過剰リン酸化が不溶性で神経毒性をもたないとされる「高度」多量体の形成を促進した可能性が議論されている。

上記のごとく、佐藤氏は本研究においてGRK6によるリン酸化が α Sのもつ中脳黒質ドパミン神経細胞毒性に与える影響を哺乳動物個体レベルで初めて明らかにした。従って本審査委員会は本研究が学位(医学)の授与に値するものと判定する。

(1, 200字以内)