

論文内容要旨

論文題目

Midnolin とパーキンソン病の関連性とその分子基盤の解明

指導（紹介）教授： 石井 邦明
氏 名： 小原 祐太郎

【内容要旨】

パーキンソン病 (PD) は、中脳黒質のドーパミン神経細胞が変性することに起因する神経変性疾患である。家族性 PD 患者から多くの原因遺伝子が同定されているが、PD 患者の大多数は孤発性であり、その発症機序はよく理解されていないのが現状である。

Midnolin (*MIDN*) は、2000 年に胎生期のマウス中脳に多く局在する遺伝子として発見された。*MIDN* の N 末端にはユビキチン様ドメインが、C 末端には核小体移行シグナルが存在する。しかし、その発見から長い年月が経過しているにもかかわらず、*MIDN* の生理的・病理的な役割に関する報告例は乏しい。*MIDN* が中脳に多く分布し、その神経発生への関与が推察されること、カテコラミン合成を制御する ERK5 によってその遺伝子発現も調節されることから、*MIDN* の機能不全と PD が関連することが予想される。そこで、本研究では *MIDN* の病態生理的な役割を明らかにすることを目的として、研究を行った。

孤発性 PD 患者を対象としたゲノムワイド関連解析を行ったところ、対照群（健康な高齢者 100 人）では *MIDN* 遺伝子のコピー数変化を有する人がいなかったことに対して、孤発性の PD 患者 9 人 (10.5%) では *MIDN* のコピー数の減少が認められたことから、*MIDN* のコピー数減少と PD の関連性が明らかになった。ドーパミンを生合成する PC12 細胞を nerve growth factor (NGF) で刺激すると、NGF の時間・濃度依存的に *MIDN* 遺伝子が発現した。この遺伝子発現は extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 および ERK 5 シグナルの阻害薬で抑制されたことから、NGF は ERK1/2 および ERK5 を活性化して、*MIDN* 遺伝子の発現を引き起こしていることが示唆された。PC12 細胞に発現する *MIDN* を免疫染色したところ、核および細胞内小胞膜に局在した。さらに、生化学的手法で細胞内オルガネラを分画したところ、やはり核画分と粗膜画分に *MIDN* が分画された。*MIDN* の役割を明らかにするために、ゲノム編集法により *MIDN* 遺伝子を破壊した PC12 細胞株を樹立した。この細胞を NGF で刺激すると、神経突起伸長反応が大きく抑制された。各遺伝子の発現に対する *MIDN* の影響を調べるために、網羅的なトランスクリプトーム解析を行った。その結果、*MIDN* は実に多くの遺伝子の発現を正にも負にも制御し、転写調節因子として機能することが予想された。*MIDN* 遺伝子の欠損により種々の PD 原因遺伝子の発現レベルも変化した。その中でも Parkin E3 ユビキチンリガーゼの mRNA とタンパク質レベルが顕著に低下した。

以上の結果から、*MIDN* は神経細胞の神経突起伸長と Parkin を介したタンパク質の品質管理に関与し、*MIDN* 遺伝子の異常により PD が発症することが考えられた。

令和 1 年 8 月 10 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： 小原 祐太郎

論文題目：Midnolin とパーキンソン病の関連性とその分子基盤の解明

審査委員：主審査委員

藤井 聡

：副審査委員

園田 順久

：副審査委員

後藤 薫

審査終了日：令和 1 年 7 月 30 日

【論文審査結果要旨】

研究趣旨：パーキンソン病(PD)は、中脳黒質のドーパミン作動性神経細胞の変性に起因し、その一部は原因遺伝子が同定されているものの、大多数は孤発性であり発症機序に不明な点が多い。Midnolin (MIDN)は、胎生期マウス中脳に多く局在する遺伝子で、カテコラミン生合成を制御するERK5により遺伝子発現が調節されていることから、PD発症への関与の可能性が示唆されている。本研究は、MIDNとPD発症の関連性およびその分子基盤を検討したものである。

研究方法および結果：孤発性 PD 患者を対象としてゲノムワイド関連解析を行ったところ、対照健常者群では MIDN のコピー数に変化が見られなかった一方で、孤発性 PD 患者の 10.5%にコピー数の減少が見られた。この結果をもとに、次いでその細胞メカニズムを解析した。ドーパミン生合成を行う PC12 細胞を nerve growth factor (NGF)で刺激すると NGF 濃度依存性に投与後数時間 MIDN 遺伝子発現が見られ、この過程に ERK1/2 および ERK5 の関与が認められた。これらの PC12 細胞を免疫染色すると、発現した MIDN 遺伝子は核および細胞内小膜に局在し、同局在は生化学的手法を用いて確認された。次いで、ゲノム編集法により MIDN 遺伝子を破壊した PC12 細胞を樹立し NGF 刺激したところ、神経突起伸長反応が著しく阻害されることが確認された。また、同 PC12 細胞では、ParkinE3 ユビキチンリガーゼの mRNA とタンパク質レベルが低下していることが確認された。以上の結果、申請者は、MIDN が神経突起伸長と Parkin を介して産生タンパク質の品質管理に関与し、MIDN の遺伝子異常が PD の発症に関与すると結論した。

評価：本論文において提示された画像はいずれも適切なもので、各数値の統計学的処理は適切になされており、得られた結論は妥当である。本研究の独創的な点は、孤発性パーキンソン病の約 10%において MIDN 遺伝子異常が関与する事実を明らかにし、その分子メカニズムを解明した点にある。本研究は、「ドーパミン作動性ニューロンにおいて、MIDN 遺伝子異常という胎生期に備わった脆弱性に、何らかの後天的な発病因子が加わることが、パーキンソン病発症メカニズムの一部をなす」という仮説を提示した点で学問的意義を有する。同仮説の提示はパーキンソン病治療法の開発に寄与する社会的意義をも有する。本審査会は当研究が学位(医学)の授与に値するものと判定する。