

氏名(本籍)	いそ べ 磯部 ことよ (茨城県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第2471号
学位授与年月日	平成13年2月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Molecular Genetics of Human Age-related Respiration Deficiency (ヒトの老化に伴うミトコンドリア呼吸機能低下に関する分子遺伝学)
主査	筑波大学教授 理学博士 林 純一
副査	筑波大学教授 理学博士 高橋 三保子
副査	筑波大学教授 理学博士 平林 民雄
副査	筑波大学教授 理学博士 山根 國男

論文の内容の要旨

加齢に伴うミトコンドリア呼吸機能低下は老化の原因の一つである。ミトコンドリア呼吸機能はミトコンドリアDNA (mtDNA) と核ゲノムとの二重支配を受けているため、どちらのゲノムが老化に伴うミトコンドリア呼吸機能低下の原因であるのかについて、先行研究で多くの議論がなされてきた。近年、ミトコンドリア病の原因になると証明されたmtDNA突然変異が健常人の組織からもわずかに検出され、その割合は加齢と共に増加するという数多くの報告から、mtDNAに生じた体細胞突然変異の蓄積がミトコンドリア呼吸機能低下の原因であると考えられてきた(ミトコンドリア原因仮説)。しかし、これを直接証明する証拠は未だ得られていない。そこで本論文では、ミトコンドリア呼吸機能低下を引き起こす原因ゲノムを探るために以下に述べる純粋核移植法を確立し、その手法を用いて、呼吸機能低下の原因が核側の劣性突然変異によるものであることを立証した。この結果から、加齢に伴うmtDNA突然変異の蓄積が呼吸機能低下を引き起こす原因ではないことが明らかになった。更に、その理由を解明するため、異なる部位に突然変異を有する様々なmtDNA同士がお互いの異常な遺伝子産物を貸し借りし、相補作用することによって呼吸機能低下を防ぐのではないかという仮説を立てた。この仮説を証明するための培養細胞系を新たに構築した結果、mtDNA相補作用の存在を立証することができた。

まず初めに、原因不明のミトコンドリア病患者由来の線維芽細胞に、正常細胞の核のみを導入したNuclear-Hybridsを作成してミトコンドリア呼吸鎖酵素活性を測定することにより、患者における呼吸機能低下の原因ゲノムを決定する純粋核移植法を確立した。従来のミトコンドリア移植法が患者のmtDNAに病原性があるかどうかを見極めるだけの手法であるのに対し、純粋核移植法は呼吸機能低下の原因が、核側の劣性突然変異か、核側の優性突然変異又はmtDNA突然変異かを決定できる手法である。次に、老人由来の線維芽細胞に正常細胞の核を導入したNuclear-Hybridsを作成して呼吸鎖酵素活性を測定する核移植法により、老化に伴うミトコンドリア呼吸機能低下の原因がmtDNA突然変異の蓄積ではなく、加齢と共に核ゲノムに蓄積した劣性突然変異によるものであるという結果を得た。しかもこの劣性突然変異は、ミトコンドリア内遺伝子発現系でのタンパク質合成にかかわる因子に生じていることを証明した。

更に、加齢に伴うmtDNA突然変異の蓄積が呼吸機能低下を引き起こす原因にならない理由として、異なる部位に突然変異を有する様々なmtDNA同士がお互いの異常な遺伝子産物を貸し借りする相補作用を行うという仮説を立てた。この仮説を検証するため、既知のmtDNA突然変異を有し呼吸鎖酵素活性を全く持たない二種類の細胞株

を親株としてHybridsを作製することで、同一細胞内にmtDNA突然変異を混在させた。得られたHybridsにおいて、相補作用がなければ親株同様、呼吸鎖酵素活性を全く持たないとの予想にもかかわらず、実際は対照と比較して60%の呼吸鎖酵素活性を復活させ、mtDNA相補作用の存在を確認できた。

近年、老化に伴うミトコンドリア呼吸機能低下の原因は加齢に伴い蓄積する様々なmtDNA突然変異であると推察されてきたが、ミトコンドリアはmtDNA同士の相補作用により呼吸機能低下を回避できる仕組みを進化させており、むしろ加齢に伴い核ゲノムに蓄積する体細胞劣性突然変異が呼吸機能低下を引き起こすという結論を得るに至った。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文の特徴は、培養細胞融合手法を用いて、ミトコンドリア呼吸機能低下を引き起こす原因ゲノムを探るための新手法を確立し、加齢に伴う呼吸機能低下の原因が核側の劣性突然変異によるものであることを明らかにした点である。更に、異なる部位に突然変異を有する二種類の突然変異mtDNA間にmtDNA相補作用が存在することを証明し、加齢に伴い蓄積する様々なmtDNA突然変異は、呼吸機能低下を引き起こす原因とはならないことも明らかにした。本論文の成果は、従来考えられて来た「老化ミトコンドリア原因仮説」を大きく覆し、ミトコンドリア遺伝学の領域に新しい概念を提供するものである。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。