

氏名	王 萱		
学位の種類	博士（ 生物工学 ）		
学位記番号	博 甲 第 10111 号		
学位授与年月日	令和 3 年 9 月 24 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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Cellular and Genetic Studies of α -Synuclein Propagation in the <i>C. elegans</i> Neuronal Circuit. (線虫神経回路における α シヌクレイン伝播の細胞学および遺伝学的研究)		
主査	筑波大学准教授（連携大学院）	博士（理学）	戸井基道
副査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	博士（農学）	谷本啓司
副査	筑波大学講師	博士（学術）	大徳浩照

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、パーキンソン病発症の主要要因とされている α シヌクレインの脳内細胞間伝播の分子メカニズム解明を目指し、モデル動物線虫の単一神経回路を用いることで、伝播に関与する新規分子経路について報告したものである。併せて、 α シヌクレインがもたらす神経細胞に及ぼす影響を評価し、作用する分子群についても検討している。

第一章で著者は、序論としてアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患やそれらの発症要因である凝集性変性タンパク質に関する現在までの理解と研究上の問題点を述べている。特に、凝集性変性タンパク質がプリオンのように脳内の神経細胞間を伝播して拡散していく現象について、これまでに行われた研究を精査し、立証されている知見と疾患発症との関連性について述べ、病状進行の実態とその抑制に必要な知見を議論している。

第二章で著者は、 α シヌクレインが神経細胞、特にシナプス機能に及ぼす影響について明らかにするために、線虫の単一神経細胞にヒト α シヌクレインを発現させ、加齢依存的に形態異常を引き起こすことを示している。ただし、これまでの報告とは異なり、神経変性は引き起こさないことから、 α シヌクレインによる細胞毒性は神経細胞種特異的であることを述べている。また、プレシナプスにおけるシナプス小胞の異常集積を観察し、その原因が神経活動時のカルシウム流入量の減少に依存していることを見出している。

第三章で著者は、神経細胞間における α シヌクレインの伝播を可視化するために、Split-GFPを応用した可視化プローブを線虫神経回路に発現させ、シナプスを介した α シヌクレインの伝播様式を解析している。その結果、シナプス後細胞からシナプス前神経に輸送されるいわゆる逆行性伝達による伝播が α シヌクレインの主要な拡散経路であることを見出している。さらに細胞内取込みを制御する分子群の突然変異体を用いた解析を行い、細胞外から内への取込みが、通常のエンドサイトーシス制御分子とは異なる機構で行われていることを証明している。

第四章で著者は、本研究から得られた結果をこれまで報告されている α シヌクレイン伝播の研究結果と比較し、伝播の分子機構に関して考察している。また、シナプス接続が明瞭な線虫の実験系を用いたことから得られた新規知見に基づいて、本解析システムの利点と難点についても言及し、特に近年注目され始めている変性疾患発症と腸内細菌叢との関係を明らかにするために線虫解析系のメリットを論じている。

審 査 の 要 旨

パーキンソン病を含む多くの神経変性疾患は、加齢に伴い症状が進行する疾患であり、その理由の1つに発症要因である凝集性変性タンパク質の脳内細胞間伝播が近年論じられている。したがって、症状の悪化を抑制し患者のQOLを維持するために、細胞間伝播の基本メカニズムを理解することで、副作用を生じない伝播抑制技術・創薬の開発が有効である。本研究は、モデル動物を用いた解析系を構築し、変性タンパク質伝播の神経細胞学的な新たな知見を提案し、かつ過去に報告のない新規制御関連分子についても言及しており、パーキンソン病進行の理解とその抑制に向けて大きな意義を有するものと考えられる。

審査対象論文において著者は、モデル生物線虫の微小神経回路網を用いた解析系を用い、パーキンソン病発症要因である α シヌクレインの神経細胞間伝播を可視化する系を新たに構築している。この動物モデルを用いることで、神経回路網内における α シヌクレインの伝播について、シナプスを介した伝播の方向性やシナプス強度と伝播量との関連性を定量解析することを可能にしている。

著者は、 α シヌクレインがシナプス後細胞からシナプス前細胞へ逆行的に伝播していくことが、神経回路における拡散の主要な経路であることを見出し、伝播効率とシナプス接続強度（シナプス接続数）には相関がないことも述べている。これらの細胞学的知見は、これまで様々な議論がなされてきた α シヌクレイン伝播の実態について、生体内で示された初めての明確な事例として評価される。

さらに著者は、 α シヌクレインの逆行性伝播を制御する分子メカニズムを理解するために、突然変異体を用いた解析も行っている。その結果、エンドサイトーシス制御に関わる主要分子の1つEndophilinは、 α シヌクレインの神経細胞内取り込みに関与していないことを明らかにしている。この結果は、変性タンパク質の伝播は一般的なエンドサイトーシス機構とは異なるメカニズムで行われていることを示唆している。これまでの国内外の報告において、 α シヌクレインの伝播の分子機構について明確に言及したものは見当たらず、本研究は、通常の細胞内取り込みとは異なる機構が作用していることを見出した最初の報告となっている。

これらの成果は、発症要因の理解と症状進行の特定が遅れているパーキンソン病に対して、その進行を抑制する標的分子あるいは分子経路候補を提供し、今後の創薬開発の一助になると評価することができる。

令和3年7月20日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。