

氏名(本籍)	た なか だい すけ 田 中 大 輔 (茨城県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 4988 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 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	Studies on Behavioral Alterations Induced by Mitochondrial Dysfunction (ミトコンドリア機能異常に起因する行動異常の研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	林 純 一
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千 葉 智 樹
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	中 田 和 人
副査	筑波大学教授	理学博士	沼 田 治

論 文 の 内 容 の 要 旨

ミトコンドリアは酸化的リン酸化反応(呼吸)により細胞内のエネルギーを産生する細胞小器官であり、そのマトリクスには独自のゲノムであるミトコンドリア DNA (mtDNA) が複数コピー存在する。mtDNA は呼吸に必須な酵素群をコードしているため、mtDNA に何らかの病原性突然変異が生じるとミトコンドリアの呼吸機能不全となり、多様な病気を引き起こす可能性がある。事実、全身性のミトコンドリア機能異常を伴うミトコンドリア病の患者さんの組織には、特定の病原性突然変異型 mtDNA の蓄積が見出されている。さらにこの疾病では、神経原性の臨床症状の合併も知られている。そして、一般的な神経変性疾患の患者さんのゲノム解析においても、mtDNA の突然変異が検出されている。そのため、mtDNA の突然変異を起点とした高次脳機能障害という病態発症コンセプトが考えられてきた。しかしこのコンセプトは患者さんの研究を発端とした順遺伝学的な視点に基づいているため、mtDNA 突然変異によるミトコンドリア呼吸機能異常が高次脳機能に本当に影響を及ぼすのか? といった命題の直接的な証明にはならない。

このような状況において、所属研究室ではミトコンドリア病の患者さんでも散見される大規模欠失変異型 mtDNA (Δ mtDNA) を全身に様々な割合で含有するミトコンドリア病モデルマウス(ミトマウス)の作製に成功し、先駆的な成果を報告してきた。ミトマウスにおける Δ mtDNA の病原性はその含有率が約 80% を超えた場合のみ現れ、ミトコンドリア病と同様の臨床症状を発症する。本研究では、このミトマウスを用いて変異型 mtDNA の高次脳機能における病原性とそれによる病態発症機構の逆遺伝学的解明を目指した。

高次脳機能の病態表現型の検出には行動解析がもっとも有効な実験系となる。前述のように、 Δ mtDNA を多含するミトマウスはミトコンドリア病の臨床症状を発症する。このため、ミトマウスにおける高次脳機能の病態表現型はミトコンドリア病の臨床症状によって検出できない可能性が高い。したがって、本研究ではミトコンドリア病の臨床症状を発症する前段階、すなわち軽度なミトコンドリア呼吸機能異常のみを示すミトマウス群を用いて、 Δ mtDNA によるミトコンドリア呼吸機能異常が高次脳機能に及ぼす影響を解析した。

まず、運動機能に関する種々の行動解析を行った。その結果、高次脳機能に影響を及ぼすような重篤な表現型は示されなかった。

次に、認知機能に関する行動解析をバーンズ円形迷路試験を用いて行った。この試験では、約1週間の空間学習トレーニングにより学習効果の比較を、さらに続いてトレーニング後1日と7日（短期記憶）および36日（長期記憶）に空間学習に関する記憶能力の比較を行った。その結果、トレーニング後36日においてのみ Δ mtDNA を多含するミトマウス群で著しい記憶の低下が確認され、 Δ mtDNA の蓄積が長期記憶に対して選択的に影響を及ぼすことが示唆された。

ミトコンドリア呼吸機能異常と長期記憶障害との関連性を検証するために、ミトマウスの脳におけるミトコンドリア呼吸機能を、mtDNA にコードされる COI タンパク質の発現およびシトクロム *c* オキシダーゼ (COX) 活性を指標として解析した。その結果、 Δ mtDNA 含有率とミトコンドリア呼吸機能の低下に相関がみられた。さらに、脳組織は他の臓器に比べて Δ mtDNA 含有率に感受性が高いことも示された。これらの結果から Δ mtDNA の蓄積によるミトコンドリア呼吸機能の破綻が長期記憶障害の原因となる可能性を示すことができた。

続いて、ミトコンドリア呼吸機能の破綻がどのような機構で記憶障害へと導くのかを検証するために、ミトマウスの脳組織を用いた免疫組織学的解析を行った。最近の研究により、脳の皮質および、歯状回部分におけるカルシウム / カルモジュリン依存性キナーゼ II α (α -CaMKII) タンパク質の発現が、海馬一皮質間および皮質一皮質間における後天的な神経回路形成のためのシナプス可塑性に必須であることが示されている。そこで、ミトマウスの皮質・歯状回部分における α -CaMKII タンパク質の発現を調べた。その結果、長期記憶障害が確認されたミトマウス群では、皮質・歯状回部分ともに α -CaMKII の発現量が著しく減少していた。この結果から、ミトコンドリアの正常な呼吸機能が海馬一皮質間および皮質一皮質間における、シナプス可塑性による後天的な神経回路形成に必須であることが示された。そして、ミトコンドリア呼吸機能の破綻が後天的な神経回路形成を阻害した結果、長期記憶の形成ができなくなったと考えられる。

審査の結果の要旨

本学位論文において田中氏は、正常なミトコンドリア呼吸機能がマウスの皮質・海馬部分での α -CaMKII による後天的な神経回路形成と、その可塑性による長期記憶の形成に必須であるということの逆遺伝学的立証に成功した。さらに、 Δ mtDNA の蓄積によるミトコンドリア呼吸機能の破綻が長期記憶障害や認知症の原因になる可能性を示すことにも成功したことから、本学位論文は学問的価値が高いと判断できる。

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。