

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	澤 田 知 世
論文題目	Parkinson’s Disease–Associated Kinase PINK1 Regulates Miro Protein Level and Axonal Transport of Mitochondria (家族性パーキンソン病原因遺伝子産物PINK1はMiroのタンパク質安定性を調節することによりミトコンドリアの軸索輸送を制御する)		
(論文内容の要旨)			
【背景】パーキンソン病は黒質ドーパミン神経の変性・脱落による運動障害を主徴とする中枢神経変性疾患である。常染色体劣性遺伝形式をとる若年性パーキンソン病の原因遺伝子 <i>PINK1</i> および <i>parkin</i> の遺伝子産物は、それぞれ Ser/Thr キナーゼ、ユビキチンリガーゼとしての機能を有し、ともに膜電位を消失した損傷ミトコンドリアのオートファジーによる選択的な除去（マイトファジー）に必須であることから、近年、本疾患へのミトコンドリア品質管理機構の破綻の関与が注目を浴びている。しかし、マイトファジーは神経細胞に限られた機構ではなく、現在のところ <i>PINK1</i>、<i>Parkin</i> の機能不全とドーパミン神経の選択的な変性をつなぐメカニズムの解明には至っていない。 【目的と方法】この神経細胞選択性に関わるメカニズムを解明すべく、本研究ではショウジョウバエを用いた遺伝学的スクリーニングおよび表現型解析に加え、哺乳類培養細胞を用いた細胞生物学的解析により、<i>PINK1</i>、<i>Parkin</i> の機能について検討を行った。 【結果と考察】<i>PINK1</i> のノックアウト（KO）ショウジョウバエでは、ミトコンドリアの形態異常や翅の姿勢異常、ドーパミン神経の脱落、運動障害などが観察される。翅の姿勢異常を指標としたスクリーニングの結果、これらの表現型を修飾する分子として、微小管に沿ったミトコンドリアの輸送を担うミトコンドリア外膜タンパク質 <i>Miro</i> を同定した。<i>PINK1</i> KO ショウジョウバエにおいて <i>Miro</i> をノックダウンすると、上述のすべての表現型に改善が認められた。また、<i>PINK1</i> をノックダウンしたショウジョウバエ幼虫では、運動神経におけるミトコンドリアの順行性軸索輸送に明らかな増加が認められた。一方、<i>PINK1</i> の過剰発現はミトコンドリア軸索輸送を両方向性に抑制し、同様の結果が <i>Miro</i> をノックダウンした場合にも観察されたことから、<i>PINK1</i> が <i>Miro</i> の機能を負に調節することによってミトコンドリア軸索輸送を直接的に制御する可能性が示唆された。さらに、HeLa 細胞を用いた検討の結果、ミトコンドリアの膜電位消失に伴い <i>Miro</i> が <i>PINK1</i>-<i>Parkin</i> 依存的なユビキチン化および分解を受けることを見出した。<i>Miro</i> をノックダウンした HeLa 細胞では、ミトコンドリア膜電位消失後のマイトファジーの進行に明らかな促進が認められたことから、<i>PINK1</i> および <i>Parkin</i> は膜電位を消失したミトコンドリア上の <i>Miro</i> を特異的に分解することで損傷ミトコンドリアの輸送を阻止し、マイトファジーによる除去を促すことが示唆された。 局所的なエネルギー需要に応じたミトコンドリア輸送は、極性を有する神経細胞にとって特に重要である。本研究において見出した <i>PINK1</i>、<i>Parkin</i> によるミトコンドリア輸送制御機構は、<i>PINK1</i>、<i>Parkin</i> の機能不全が神経細胞の選択的な変性へと至るメカニズムの一端を担うものであると考えられる。 【結論】本研究では、若年性パーキンソン病原因遺伝子産物 <i>PINK1</i>、<i>Parkin</i> が、ミトコンドリア外膜タンパク質 <i>Miro</i> の安定性を調節することにより、ミトコンドリア軸索輸送機構を制御するメカニズムを見出した。			

(論文審査の結果の要旨)			
本研究ではまず、ショウジョウバエを用いた表現型解析により、若年性家族性パーキンソン病原因遺伝子 <i>PINK1</i> とミトコンドリア軸索輸送を担う <i>Miro</i> の間に強い遺伝的相互作用があることを見出した。ショウジョウバエ幼虫の運動神経を用いたライブイメージングでは、PINK1 の発現抑制がミトコンドリア軸索輸送を促進するのに対し、PINK1 の過剰発現はこれを抑制することが明らかとなり、PINK1 がミトコンドリア軸索輸送を負に制御することが示唆された。また、ヒト由来細胞株 HeLa 細胞を用いた検討の結果、PINK1 が、同様に家族性パーキンソン病の原因遺伝子産物である Parkin と協働して、膜電位を消失した損傷ミトコンドリア上の Miro の選択的な分解を促すことを見出した。これらの結果から、PINK1 と Parkin が Miro を分解することによって損傷ミトコンドリアの輸送を阻止し、そのマイトファジーによる除去を促すことが示唆された。このメカニズムは、神経終末への正常ミトコンドリアの供給を保証するものであると考えられる。 以上の研究は、PINK1、Parkin の遺伝子変異によって発症する若年性家族性パーキンソン病において、ミトコンドリア品質管理機構の破綻が神経細胞の選択的な変性に至るメカニズムの解明に貢献し、パーキンソン病発症機序解明と治療法の確立に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成25年2月12日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			