京都大学	博士（医学）	氏　名	白樫　義知
論文題目	α-Synuclein is colocalized with 14-3-3 and synphilin-1 in A53T transgenic mice （A53T 遺伝子改変マウスにおいてα-シヌクレインは 14-3-3 タンパク質およびシンフィリン-1 と共存して存在する）		

（論文内容の要旨）

α–シヌクレインは、パーキンソン病の黒質メラニン含有細胞に特徴的に認められる細胞質内封入体レヴィー小体の主要な構成要素である。さらに、α–シヌクレインは家族性パーキンソン病の原因遺伝子の一つであり、A53T、A30P、E46K の 3 種の変異が見出されており、パーキンソン病の発症機転に重要な関わりを有すると考えられている。α–シヌクレインはシナプス前部に分布し、シナプス小胞の開口放出の調節やシナプス可塑性に関与すると考えられている。病的状態では、α–シヌクレインはレヴィー小体の中で高濃度に凝縮されており、この過程は変異により促進される。レヴィー小体のその他の構成要素として 14-3-3 タンパク質、シンフィリン-1 が知られている。14-3-3 タンパク質は、ミトコンドリアの bcl-2 と結合しアポトーシスを抑制する、また、シグナル伝達に関与し、細胞周期の調節、細胞の分化やシャペロン蛋白としての作用も知られている。α–シヌクレインと 14-3-3 タンパク質はアミノ酸配列の一部に類似性を認め、会合する事が知られており、レヴィー小体内においても会合し複合体を形成して存在している。培養細胞に過剰発現したシンフィリン-1 はα–シヌクレインと会合し、レヴィー小体類似の細胞内封入体を形成すること、さらにシンフィリン-1 は、レヴィー小体の中心部に蓄積しており、生体内においてもレヴィー小体の形成に重要な役割をしていると予想される。そこで、本研究ではα–シヌクレインと 14-3-3 タンパク質、シンフィリン-1 が共存して封入体形成に関与しているかどうかを調べるため、変異型ヒトα–シヌクレイン(A53T)を過剰発現させたマウス(A53T-Tg マウス)の脳及び脊髄をα–シヌクレイン，ユビキチン，14-3-3 タンパク質，シンフィリン-1 に対する抗体を用いた免疫染色法により検討した。α–シヌクレイン，14-3-3 タンパク質，シンフィリン-1 の局在については、蛍光抗体法による二重標識によっても検討した。運動障害の発現した A53T-Tg マウスのホモ接合体 5 例 (12 ヶ月齢から 14 ヶ月齢)およびその同腹仔である未発症のヘテロ接合体 5 例のマウスを用いて比較検討した。12 ヶ月齢から 14 ヶ月齢のヘテロ接合体においては，α–シヌクレイン陽性凝集物は全く観察されないが，同月齢の運動障害を発症したホモ接合体のマウスでは中脳・橋傍正中部，深部小脳核，脊髄の神経細胞の細胞体及び突起においてα–シヌクレインの強い免疫活性を認め、一部細胞質内封入体の形成を認めた。ヘテロ接合体においてシンフィリン-1 の免疫活性は低いが、ホモ接合体では神経細胞質内封入体にシンフィリン-1 陽性所見を認め，橋や頸髄ではα–シヌクレイン陽性凝集物の局在と一致して認められた。14-3-3 タンパク質は、ヘテロ，ホモ接合体の両者において神経細胞質内活性を認めたが，ホモ接合体では，ヘテロ接合体に比べて、橋や脊髄において免疫活性が極めて強く，脊髄においてはα–シヌクレイン免疫活性と局在が一致した。以上より、変異型α–シヌクレインを過剰発現することで、α-シヌクレイン及び 14-3-3 タンパク質やシンフィリン-1 が会合し神経細胞質内封入体が形成されることが明らかとなり、14-3-3 タンパク質、シンフィリン-1 が封入体形成に費やされることで機能障害をきたし、神経細胞死に関与している可能性が本研究により示唆された。このことはパーキンソン病の成因及び治療研究において成因機序の解明につながる意義のある結果と考えられた。

（論文審査の結果の要旨）

αーシヌクレイは、パーキンソン病の黒質メラニン含有細胞に特徴的に認められるレヴィ小体の主要な構成要素であり、パーキンソン病の発症機転に重要な関与を有すると考えられている。その他の構成要素として１４－3－3タンパク質、シンフィリンー１が知られている。本研究ではαーシヌクレインと14-3-3タンパク質、シンフィリン-1が共存して封入体形成に関与するかどうかを調べるため、変異型ヒトα-シヌクレイン（A53T）を過剰発現させたトランスジェニックマウスの脳及び脊髄を免疫染色法により検討した。運動障害を発症したホモ接合体のマウスでは脳幹、深部小脳核、脊髄の神経細胞の細胞体及び突起においてα-シヌクレイン陽性所見を認めた。ホモ接合体では神経細胞質内封入体にシンフィリン-1陽性所見を認め、橋や頸髄ではα-シヌクレイン陽性凝集物の局在と一致した。14-3-3タンパク質は、ホモ接合体では、橋や脊髄において免疫活性が極めて強く、脊髄ではα-シヌクレイン免疫活性と局在が一致した。以上より、α-シヌクレイン及び14-3-3タンパク質やシンフィリン-1が会合し細胞質内封入体が形成され封入体形成に費やされることで機能障害を来たし、神経細胞死に関与している可能性が示唆された。

以上の研究はパーキンソン病の成因機序の解明に貢献し、今後の治療研究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２１年４月１６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