



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                 |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Studies on cell-autonomous mechanisms for neurodegeneration in prion disease [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 田中, 美咲                                                                                                                                          |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                           |
| Degree Name         | 博士(獣医学)                                                                                                                                         |
| Dissertation Number | 甲第14272号                                                                                                                                        |
| Issue Date          | 2020-09-25                                                                                                                                      |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/79724">https://hdl.handle.net/2115/79724</a>                                                               |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>                                         |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                 |
| File Information    | Misaki_Tanaka_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                                                             |



学位論文内容の要旨  
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：田中 美咲

Name

学位論文題名

Studies on cell-autonomous mechanisms for neurodegeneration in prion disease

（プリオン病における神経細胞自律的変性機構に関する研究）

神経細胞内での正常型プリオンタンパク質（PrP<sup>C</sup>）から異常型プリオンタンパク質（PrP<sup>Sc</sup>）への構造転換は、プリオン病において鍵となる病態生理学的事象のひとつである。神経細胞でのプリオン増殖は、それ自体がプリオン病の神経病理における重要なイベントであると考えられているが、プリオンの増殖に対する真の神経細胞応答については十分に理解されていない。その一因として、プリオン感染と PrP<sup>Sc</sup> の新規産生に対する神経細胞自律的な応答の解析に適した実験系が確立されていないことが挙げられる。私は、4 週以上にわたってアストロサイトの増殖が抑制されるよう改良した神経細胞エンリッチメント法を用いて、マウス胎仔大脳皮質および視床の初代培養神経細胞を作出してきた。この初代培養神経細胞はプリオンの感染に感受性であり、産生される PrP<sup>Sc</sup> はマウス生体で産生される PrP<sup>Sc</sup> と形態的・生化学的に類似した特徴を示した。そこで本研究ではこの初代培養系を用いて、プリオン感染に対する神経細胞自律的応答を解析した。

第一章では、大脳皮質および視床由来初代培養神経細胞にプリオンを感染させた時の神経細胞の変化を解析した。初代培養神経細胞で産生される PrP<sup>Sc</sup> は経時的に増加したものの、これに伴う明らかな神経細胞数の減少や神経突起密度の低下は認められなかった。小胞体ストレス応答である Unfolded protein response (UPR) の PERK-eIF2 $\alpha$  シグナリング経路の活性化状態について、個々の神経細胞を免疫染色により詳細に解析したところ、大脳皮質由来神経細胞では PrP<sup>Sc</sup> とリン酸化 PERK の染色シグナル数が正の相関を示し、PrP<sup>Sc</sup> 産生による PERK リン酸化の促進が示唆された。しかし、PERK リン酸化に続く下流シグナルの活性化およびシ

ナプスタンパク質翻訳抑制は認められなかった。これらの結果は、神経細胞における PrP<sup>Sc</sup> の産生は直接に小胞体ストレスを惹起し、PERK-eIF2 $\alpha$  シグナリングの初期段階を神経細胞自律的に活性化させるが、UPR の完全な活性化には不十分であることを示している。

第二章では、プリオン感染初代培養神経細胞のトランスクリプトームの変化から神経細胞自律的応答を解析した。プリオン感染により発現変動を示した遺伝子の Gene Ontology 解析および Ingenuity Pathway Analysis を用いたパスウェイ解析では、神経変性や神経細胞死に直接つながるシグナル経路や生物学的機能の活性化は予測されなかった。この結果は第一章の解析結果と一致して、初代培養神経細胞でのプリオンの増殖に対する神経自律的応答は、神経細胞死に至るプロセスを完全には活性化しないことを示唆している。一方で、神経変性や神経細胞死に直接の関連は認められないものの、プリオン感染神経細胞において細胞骨格リモデリング、脂質代謝に関連するシグナル経路や生物学的機能が変化することが示唆された。トランスクリプトーム解析により、プリオン感染神経細胞において細胞・生物機能の劇的な変化は神経細胞自律的には生じないことが示されたが、このプリオン感染初代培養神経細胞の網羅的遺伝子発現変動データはプリオン病の神経変性メカニズムを理解するうえで今後も有効に活用されるものと考えている。

この学位論文では、プリオン病における神経細胞自律的な神経変性メカニズムの解明に向けて種々の解析に取り組み、プリオンの増殖自体が神経病理学的な初期変化である小胞体ストレスの原因となるが、この初期異常は神経自律的には UPR 全体の活性化に至らないことを明らかにした。トランスクリプトーム解析においても、プリオンの増殖によって明らかに影響を受ける神経細胞特異的なシグナル経路や生物学的機能が特定されなかった。これらの結果は、プリオン病の神経変性メカニズムにおいては、神経細胞での PrP<sup>Sc</sup> の産生に加えて、非神経細胞因子が重要な役割を果たすことを示唆している。本研究は神経変性メカニズムの完全な理解に向けて、基盤となるプリオン感染神経細胞の変化を明らかにした点で、今後の研究の発展に大きく寄与するものである。