



# 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_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                                 |



## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：田 中 美 咲

|      |        |               |
|------|--------|---------------|
| 審査委員 | 主査 教授  | 堀 内 基 広       |
|      | 副査 教授  | 澤 洋 文         |
|      | 副査 教授  | 新 竜 一 郎(宮崎大学) |
|      | 副査 准教授 | 小 林 篤 史       |

## 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の増殖は、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。田中氏は、アストロサイトの増殖を抑制する神経細胞エンリッチメント法を用いて、マウス胎仔大腦皮質および視床の初代培養神経細胞を作出してきた。本研究ではこの初代培養神経細胞を用いて、プリオンの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、大腦皮質および視床由来初代培養神経細胞にプリオン感染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、大腦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の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が変動した遺伝子の 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、細胞骨格リモデリング、あるいは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、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重要な情報と考えられる。

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、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と思われる。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者田中美咲氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。