



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	網膜色素上皮細胞におけるleucine-rich repeat kinase 2の影響
Author(s)	水門, 由佳
Description	配架番号 : 2956
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16646号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16646
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98256
Type	doctoral thesis
File Information	SUIMON_Yuka_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 水門 由佳

主査 教 授 神谷 温之
審査担当者 副査 准教授 矢口 裕章
副査 教 授 藤山 文乃

学 位 論 文 題 名

網膜色素上皮細胞における leucine-rich repeat kinase 2 の影響
(Impact of leucine-rich repeat kinase 2 on retinal pigment epithelial cells)

申請者の研究では、パーキンソン病(PD)の病態形成に重要な役割を果たすleucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2)と α -synucleinに注目し、加齢黄斑変性(AMD)とPDに共通する病理学的特徴を探索する検討を行った。免疫染色で、LRRK2、 α -synuclein、リン酸化 α -synucleinがヒト眼球の網膜色素上皮(RPE)層に存在することを示した。*In vitro*実験では、加齢に伴う刺激をRPE細胞に与えると、LRRK2の発現が増加し、 α -synucleinのタンパク量が増加すること、細胞内のLRRK2が α -synucleinのタンパク量の増加とリン酸化を介してRPEの細胞死を誘導すること、LRRK2はRABのリン酸化を介して、 α -synucleinの分解を抑制している可能性を示した。*In vivo*実験では、LRRK2のキナーゼ活性の亢進はRPE細胞死を生じ、それに続いて脈絡膜の菲薄化と視細胞死を生じる可能性を示した。

審査にあたり、矢口准教授から、LRRK2-G2019S の遺伝子変異がある患者は限られており、そうではない患者に応用するにはギャップがあるが、家族性パーキンソン病でなくても LRRK2 は疾患修飾因子であるため、まずは変異型から調べ、その結果を一般化していくという方針が良いと助言があった。さらに、矢口准教授から、*in vivo* 実験での RAB タンパクの検討について質問があり、申請者は本研究ではまだ検討していないが今後検討していきたいと回答した。その後、副査の藤山教授からはヒト・マウスの免疫染色の isotype control に用いた検体について質問があり、申請者はヒトの isotype control に用いた検体は 91 歳の患者であり、動物実験の isotype control で用いた検体は 29 週齢であると回答した。続いて、藤山教授から α -synuclein が、視細胞外節と RPE の間に帯状に染まっているが、実際は細胞における局在を電子顕微鏡で調べたか、また既報はあるかと質問があり、申請者は、今回の研究では電子顕微鏡で明らかにしておらず、既報もないことから今後の課題であると回答した。藤山教授から、LRRK2 の過剰発現によって、 α -synuclein の mRNA が増加せずに、タンパクが増加した機序はどの様に考えているのかと質問があり、申請者は LRRK2 が RAB をリン酸化しその機能を抑制することにより、RAB による α -synuclein の分解が抑制された可能性が考えられると回答した。さらに藤山教授から、LRRK2 は様々な作用があることか

ら LRRK2 阻害薬は副作用も多いと考えられるが、臨床応用されている薬剤なのかと質問があり、申請者は、海外でパーキンソン病に対し臨床研究中であると回答した。主査の神谷教授からは、図 27 の 16 週齢の ERG で基線が揺れている点の指摘と振幅の測定方法、解析方法についての質問があり、申請者は、動物がすぐ近くにいない様に気をつけ、周囲の電子機器の電源はオフとしてノイズが入らない様に注意したこと、それでも基線が揺れている原因ははっきりしないこと、振幅は波形の最低値から測定したとこと、波形は加算ではなく単発の波形であるが棒グラフは $n=4$ の平均値を示していることを回答した。これに対し、神谷教授から波形にノイズが入っている場合に波形を加算して解析する方法について助言があった。さらに、神谷教授からは、ERG における振幅低下と潜時延長が意味することの違いは何かと質問があり、申請者は、それぞれが意味することの違いは把握しておらず、a 波・b 波の振幅低下と潜時延長は、両者とも視細胞とそれ以降の網膜内視覚伝達の機能低下を示していると考えていると回答した。次に神谷教授から、リン酸化 α -synuclein 抗体や凝集化 α -synuclein 抗体での免疫染色は検討したのかと質問があり、申請者は、リン酸化 α -synuclein 抗体での免疫染色は行ったが、凝集化 α -synuclein 抗体については非特異的反応が多く、免疫染色を断念したと回答した。さらに、神谷教授から、AMD の臨床検体で免疫染色ができない場合に AMD のモデルマウスで検討することについて助言があった。最後に神谷教授から、創薬以外の新規治療法、例えば遺伝子治療は考えられるかと質問があり、申請者は、LRRK2 は様々な機能があり、遺伝子治療は薬以上に副作用が懸念されるため、遺伝子治療は現時点で考えていないと回答した。

この論文は、加齢黄斑変性の病態にパーキンソン病に重要な因子である LRRK2 が関与することを示した点において高く評価され、今後の加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発が期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。