

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「筋萎縮性側索硬化症の早期診断マーカーとしてのイノシトール 6 リン酸キナーゼ 2」

学位申請者 森谷 祐介

本論文は、イノシトール 6 リン酸 (IP₆) のリン酸化酵素 (inositol hexakisphosphate kinase) のサブタイプのひとつである InsP₆K2 の核内から細胞質への移行 (translocation) が、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) モデル動物である mutant superoxide dismutase (SOD)1 トランスジェニックマウス (G93A mSOD1 Tg マウス) の運動症候出現に先立って 12 週齢でみられることを、リアルタイム PCR、免疫組織染色、ウエスタンブロットなどを用いて明らかにしたものである。

申請者らは、まず家族性 ALS (FALS)1 の原因遺伝子として知られるヒト Cu/Zn SOD (SOD1) の G93A 変異遺伝子を有する Tg マウスを 6 週齢、12 週齢、17 週齢、17 週齢以降で sacrifice し、脊髄組織を取り出した。1) 申請者らがウサギを用いて作成した抗 InsP₆K2 ポリクローナル抗体を用いて行った脊髄前角の免疫組織染色 (DAB 発色) では、mSOD1 Tg マウスのみで細胞質の強い免疫活性が認められ、InsP₆K2 の核外への translocation が示された。2) 各タイムポイントでの InsP₆K2 のウエスタンブロットでは、運動症候出現直前の 12 週齢の mSOD1 Tg マウスのみで、野生型 (littermate) に比し有意な免疫活性比 (細胞質/核) の上昇が認められた。3) β アクチンを内因性コントロールとして用いたリアルタイム PCR では、InsP₆K1 mRNA の発現には mSOD1 Tg マウスと野生型で差が見られなかったが、InsP₆K2 の発現は 12 週齢 mSOD1 マウスのみで増加していた。

以上より、本 ALS モデルマウスの脊髄前角では、運動症候出現直前に InsP₆K2 の発現増加および核内から細胞質への translocation が見られ、運動ニューロンの細胞死が誘発される可能性が示唆された。この現象は、ALS の早期診断および治療薬開発などの臨床応用につながる重要な知見と考えられ、博士論文に十分値する業績であると思われた。

本論文の内容の詳細に関して、各審査委員から次のような質疑がなされた。

1. SOD に変異を有する家族性 ALS (FALS1) の発症年齢は、孤発性 ALS と異なるのか。
2. 孤発性 ALS では、SOD の直接的な関与はなく、今後の臨床応用を考えた場合、そもそも mSOD Tg マウスを用いることは妥当であるのか。
3. mSOD Tg マウスの症候出現時期、障害ニューロン (上位か下位か)、生命予後と直接死因は何か。他の ALS モデルマウスとの違いは。
4. InsP₆K2 の細胞質への translocation が、どのような系を介して神経細胞の apoptosis を誘導するのか。
5. InsP6K の 3 つのサブタイプには、それぞれどのような機能的役割があるのか。
6. 本モデルマウスでは、グリア細胞の活性化がみられるが、InsP₆K2 の発現増加に脊髄前角細胞のほかにグリア系細胞は関与していないのか。また、16 週齢以降の発現低下には、神経細胞の減少が関与しているのか。
7. InsP₆K2 を ALS の早期診断に用いようとした場合、実際にはいつ、何の検体を用いて (血液か髄液か)、どのような検査を施行すればよいのか。

これらの質問に対して、申請者は自らの研究成果と従来 of 報告を交えて考察し、ALS についての臨床的な知識と経験を踏まえて的確かつ誠実に回答した。さらに、これらの研究成果を臨床応用する際の限界を十分把握した上で、今後の研究の必要性についても考察した。質疑応答の中で、申請者は遺伝子改変モデル動物や分子生物学的手法に関して十分理解しているのみならず、広く臨床神経学全般における知識を有してしていることが確認され、今後の研究の発展に大きな期待が寄せられた。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 森谷 祐介 は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	野川 茂	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	中村 直哉	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	瀧澤 俊也	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	渡辺 雅彦	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（理学）	加藤 明	医学部准教授	（医学研究科先端医科学専攻）