

別紙 1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 川口 頌平

論 文 題 目

Endoplasmic reticulum chaperone BiP/GRP78 knockdown leads to autophagy and cell death of arginine vasopressin neurons in mice

(小胞体シャペロンであるBiP/GRP78 のノックダウンは
マウスバソプレシンニューロンのオートファジーと細胞死を誘導する)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委員

小池 晃彦 

名古屋大学教授

委員

勝野 雅央 

名古屋大学教授

委員

丸山 彰一 

名古屋大学教授

指導教授

有馬 寛 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、AVP プロモーター下に BiP shRNA を発現するアデノ随伴ウイルスをマウス視索上核と室傍核に注入し、AVP ニューロン特異的 BiP ノックダウンマウスを作成した。同マウスの尿量、飲水量を測定、AVP ニューロン数および形態学的変化を免疫電子顕微鏡にて検討した。結果として、AVP ニューロン特異的 BiP ノックダウンにより小胞体ストレスが誘導され、尿量増加と AVP ニューロンの脱落が認められた。免疫電子顕微鏡にて、アポトーシスではなく、オートファジーの活性化を示唆する所見を認めた。さらにクロロキニンによりオートファジーを阻害すると、BiP ノックダウンによる AVP ニューロン脱落の増悪を認めた。これらの結果より AVP ニューロンにおいて BiP ノックダウンは小胞体ストレスを誘導して細胞死を惹起すること、この過程で誘導されるオートファジーは細胞保護的であることが示唆された。





本研究に対し、以下の点を議論した。

- 1, 2. BiP は小胞体シャペロンとしてタンパク質の折り畳みや分泌タンパクの移行、異常タンパクの凝集防止や分解、小胞体ストレス応答の開始など小胞体での様々な機能に関与している。ヒトにおいては BiP の欠損や変異による疾患は報告されていないが、マウスにおいて BiP ノックアウトは胎生致死を引き起こすことから、ヒトにおいても BiP に先天的に異常があった場合は生存できないと考えられる。
3. 今回の実験における BiP ノックダウン効率は 50% と一般的には高くはない値ではあったが、AVP ニューロンの機能障害および細胞死を引き起こしている。AVP ニューロンは定常状態であっても BiP を強く発現していることが過去に報告されていることから、AVP ニューロンにおいて BiP の重要性は高く、その減少は致命的であると考えられる。今回の 50% のノックダウン効率で影響を及ぼしたこともこれを裏付けしている。
4. 小胞体ストレスによってユビキチン・プロテアソーム系にて分解される小胞体関連分解 (ERAD) とオートファジーが誘導され、それぞれが異常タンパクの分解に関わることが過去に報告されている。今回の研究ではオートファジーの活性化は示したが、ERAD については検討できていない。しかし ERAD を行うためには BiP が必要とされており、BiP ノックダウンでは ERAD についても障害を受けていたと考えられる。

本研究は、AVP ニューロンにおける BiP の役割を知る上で、重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	川口 頌平		
試験担当者	主査	小池 晃彦		副査 ₁	勝野 雅央	
	副査 ₂	丸山 彰一		指導教授	有馬 寛	
(試験の結果の要旨)						
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. BiPの役割について 2. BiPが関与する疾患について 3. BiP shRNAによるノックダウン効率 について 4. ERADとオートファジーの相補性について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、糖尿病・内分泌内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>						