

水谷 浩徳 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

SIRT7 Deficiency Protects against A β ₄₂-Induced Apoptosis through the Regulation of NOX4-Derived Reactive Oxygen Species Production in SH-SY5Y Cells

(SH-SY5Y 細胞における SIRT7 欠損は NOX4 由来活性酸素種の產生制御を介して A β ₄₂誘導性アポトーシスを抑制する)

アルツハイマー病 (AD) 患者数が急速に増加しており、AD に対する有効な治療方法の開発は急務である。アミロイド β (A β) の蓄積による神經細胞死が AD 発症の原因の一つとされているが、A β の蓄積が細胞死を引き起こすメカニズムは十分解明されていない。長寿関連分子サーチュイン (SIRT) は NAD⁺依存性タンパク質脱アセチル化酵素活性を持ち、哺乳類において SIRT1 から SIRT7 までのサブタイプが同定されている。これまで、SIRT1 と SIRT2 が A β 産生を制御することが報告されているが、その他のサブタイプの関与は十分解明されていない。本研究は、SIRT7 に注目し、その AD 患者脳における発現と A β ₄₂誘導性神經細胞死における役割を解明することを目的として行われた。

公開データベースを利用し、ヒト脳における SIRT 遺伝子発現を調べたところ、大脳皮質、嗅内野、と前頭前皮質に SIRT7 mRNA の発現が見られ、何れの部位においても、AD 患者においては有意な発現増加を認めた。そのため、SIRT7 のノックダウンが A β ₄₂誘導性神經細胞死を抑制する可能性が考えられ、ヒト神經芽細胞種 SH-SY5Y 細胞を用いて、*in vitro*において調べた。SH-SY5Y 細胞に A β ₄₂ を投与すると、24 時間後に細胞死が誘導されることを、切断型カスパーゼ 3 タンパク量、アネキシン V 陽性細胞数、および LDH 活性の解析によって示した。SIRT7 ノックダウンした SH-SY5Y 細胞においては、これらの全ての指標が有意に低下した。即ち、SIRT7 ノックダウンによって A β ₄₂誘導性細胞死が抑制された。その機序を調べるために、AD への酸化ストレスの関与に注目した。実際、A β ₄₂ の投与によって、活性酸素種 (ROS) が増加し、その増加は N-アセチルシステイン (NAC) によって抑えられることを示した。また、NAC は A β ₄₂ 誘導性細胞死も抑制したため、その細胞死に ROS が強く関与することが示された。さらに、ROS の由来はミトコンドリアではなく、SH-SY5Y 細胞に高発現している NADPH オキシダーゼ 4 (NOX4) によることを示し、A β ₄₂ による細胞死も NOX 阻害剤と NOX4 ノックダウンによって抑えられることを示した。A β ₄₂ は NOX4 mRNA の発現量を変えずに、NOX4 タンパク質の量を増加させた。従って、A β ₄₂ は NOX4 タンパク量を増加させ、ROS を產生させて細胞死を誘導すると考えられた。A β ₄₂ による NOX4 タンパク量の増加は SIRT7 ノックダウンによって抑えられた。NOX4 と SIRT7 のダブルノックダウンでは、ROS 产生と細胞死の何れにおいても相加的な効果は見られず、両者が同一の信号伝達経路に属すると考えられるため、SIRT7 ノックダウンは A β ₄₂ による NOX4 タンパク量の増加を抑えることで、ROS 产生そして細胞死を抑制すると結論付けた。

審査では、1) SIRT サブタイプの機能的な違いを生じさせる仕組み、2) SIRT7 ノックタウンによって生ずるその他の効果、3) SIRT7 過剰発現の効果、4) A β ₄₂誘導性細胞死における ROS 関与の結果の新規性、5) SIRT7 の発現変化は AD の病因の一つなのか、6) 細胞種による影響、7) 使用した A β ₄₂ 濃度の妥当性、8) A β ₄₂ 作用時間による影響、9) ダブルノックダウンのオフターゲット効果、10) SIRT7 阻害剤の有無、11) SIRT サブタイプ全体としての効果、12) 細胞における SIRT サブタイプの共発現パターン、などについて質問がなされ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、A β ₄₂誘導性神經細胞死の仕組みとそれにおける SIRT7 の役割を解明し、SIRT7 の阻害が AD 発症を抑制する可能性を新たに示した点において、高く評価でき、学位の授与に値すると評価した。

審査委員長 知覚生理学担当教授

木 松