

氏名	野村 亮輔
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬科学
学位授与番号	博甲第 6828 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科薬科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	メチル水銀による小胞体ストレス応答を介した神経細胞死誘導機構
論文審査委員	教授 垣内 力 (主査) 准教授 合葉 哲也 准教授 児玉 進

### 学位論文内容の要旨

水俣病の原因物質として同定されたメチル水銀 (methylmercury: MeHg) は、環境中に存在する神経毒性物質である。MeHg は生物濃縮によりマグロやクジラなどに高濃度で蓄積しており、これらの大型海洋生物を食すことで我々は MeHg に曝露される。

MeHg はタンパク質システイン (Cys) 残基チオール基と共有結合 (S-水銀化) を形成することで、タンパク質分子の機能変化を引き起こすことが知られている。MeHg の毒性発現にはこの S-水銀化が関与すると考えられているが、MeHg が神経細胞死を誘導する詳細なメカニズムについては不明な点が多く残されている。当研究室ではこれまでに、MeHg によって小胞体 (endoplasmic reticulum: ER) ストレスが惹起されることを明らかにしてきた。ER ストレスが発生すると細胞は ER 膜タンパク質 inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ), protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) および activating transcription factor 6 (ATF6) を介して unfolded protein response (UPR) を活性化することで細胞内の恒常性維持を図る。軽度のストレス条件下において、UPR は ER ストレスを軽減させるように働くのに対し、持続的または重度のストレス条件下ではアポトーシスを誘導することが知られている。しかしながら、MeHg 誘導性 ER ストレスによって、UPR が生存シグナルまたは細胞死シグナルのどちらかを優位に機能させているのかは明らかになっていない。そこで、本研究では MeHg 誘導性神経細胞死における ER ストレスおよび UPR の関与を明らかにすべく、動物レベルでの検討を行った。

ER ストレス可視化マウスを用いて MeHg 曝露による UPR の活性変化について検討したところ、UPR の中でも細胞保護的に働く寄与が大きいとされている IRE1 $\alpha$  経路の活性化が一過的であった一方で、PERK 経路は持続的に活性化することが明らかとなった。PERK 経路の持続的な活性化によりアポトーシス誘導因子の発現が増加することが知られている。実際、MeHg 障害部位である大脳皮質体性感覚野および線条体では MeHg の曝露量依存的にアポトーシス細胞が増加することが観察された。これらの結果から、MeHg による細胞死惹起には IRE1 $\alpha$  経路の抑制と PERK 経路の活性化が関与する可能性が示唆された。

続いて、MeHg 誘導性神経細胞死に対する UPR 活性変化の寄与を検討するため、ER ストレスの惹起を抑制する 4-Phenylbutiric acid (4-PBA) を用いて薬理的に検証した。その結果、4-PBA を投与することにより MeHg 誘導性 ER ストレス惹起が軽減され、IRE1 $\alpha$  経路および PERK 経路の活性化が抑制されることが明らかとなった。さらに、4-PBA の投与により MeHg 誘導性細胞死が顕著に抑制されることが判明した。以上より、MeHg 曝露による神経毒性誘導メカニズムに ER ストレス惹起を介した UPR の活性変化が関与する可能性が示唆さ

れた。

## 論文審査結果の要旨

50 ppm のメチル水銀を投与したマウスの脳内において、マウス脳内で神経細胞死が増加すること、小胞体ストレスマーカーが陽性の細胞が増加することが示された。また、これらのメチル水銀により誘導されたマウス脳内細胞の変化は、小胞体ストレスを軽減する薬剤（4-PBA）をマウスに投与することにより、軽減された。本研究は、高濃度のメチル水銀のマウス個体における毒性が、小胞体ストレスによることを証明し、メチル水銀による毒性を軽減する薬剤を提示したことから、新規性・応用性の観点で進展があると認められ、博士号に値すると判断した。