

氏名	劉 夏
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博 甲第 6119 号
学位授与の日付	令和 2年 3月 25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Molecular switching from ubiquitin-proteasome to autophagy pathways in mice stroke model (マウス脳卒中モデルにおけるユビキチン-プロテアソームからオートファジー経路への分子スイッチング)
論文審査委員	教授 伊達 勲 教授 浅沼幹人 准教授 吉村禎造

#### 学位論文内容の要旨

**Objectives:** The ubiquitin-proteasome system (UPS) and autophagy are two major pathways to degrade misfolded proteins that accumulate under pathological conditions. When UPS is overloaded, the degeneration pathway may switch to autophagy to remove excessive misfolded proteins. However, it is still unclear whether and how this switch occurs during cerebral ischemia. In the present study, we thus investigated the alterations of UPS and autophagy activities after a transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO) in mice, and examined whether there was crosstalk between these two pathways after cerebral ischemia. **Methods:** Mice were subjected to sham surgery or tMCAO for 10, 30 or 60 min, and the changes of UPS and autophagy were evaluated by immunohistochemical analysis, immunofluorescent histochemistry and western blot.

**Results:** In the present study, tMCAO resulted in accelerated ubiquitin-positive protein aggregation from 0.5 h of reperfusion in mice brain after 10, 30 or 60 min of tMCAO. In contrast, significant reduction of p62 and induction of LC3-II were observed after 30 and 60 min tMCAO. Western blot analyses showed an increase of BAG3 and HDAC6 that was dependent on the ischemic period. In contrast, BAG1 decreased at 24 h of reperfusion after 10, 30 or 60 min of tMCAO. Double staining showed colocalization of ubiquitin, HSP70, p62 and BAG3.

**Conclusions:** These data suggest that a switch from UPS to autophagy occurred between 10 and 30 min of cerebral ischemia depending on the BAG1/BAG3 ratio and level of HDAC6.

#### 論文審査結果の要旨

脳虚血に際して、ユビキチン-プロテアーゼ システム (UPS) とオートファジーは重要で、このpathwayには、HSP70, p62, LC3-IIが関与する。さらにBAG1とBAG3およびHDAC6もprotein quality controlメカニズムに関わる。しかしながら、UPSとオートファジーへのスイッチがいつ、どのように起こるかについての研究は十分になされていない。本研究ではマウスの一過性中大脳動脈閉塞モデル (tMCAO) を用いてUPSとオートファジーの間にどのようなクロストークがあるかを調べた。

tMCAOは10分、30分、60分のいずれかとし、免疫組織学的、免疫蛍光組織化学的手法、ウェスタンブロットを用いて調べたところ、ユビキチン陽性タンパクのaggregationは再灌流30分後から促進された。一方、p62の減少、LC3-IIの誘導が、30分ないし60分のtMCAOの再灌流後に観察され、24時間後にピークとなった。ウェスタンブロットでは、BAG3とHDAC6の上昇が再灌流1時間後と24時間後に観察され、これは虚血時間には依らなかった。BAG1については10分、30分、60分の虚血、再灌流24時間後では減少していた。

本研究では10分の虚血ではUPSのみがactivateされ、オートファジーはactivateされず、UPSからオートファジーへのスイッチは10分と30分の脳虚血の間の負荷で起こる、ということを経験的な知見として得た。これは価値ある業績と認める。

よって本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。