

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 吉川弥生
(鈴木)

本研究は、高等生物の神経細胞において重要な役割をはたしていると考えられる、微小管関連蛋白 1A microtubule-associated protein 1A (MAP1A) について、標的遺伝子組み替え法によりノックアウトマウス (遺伝子欠失マウス) を作成し、その解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. MAP1A ノックアウト(-/-)マウスは、出生後 1 週より徐々に活動量の低下・哺乳不全・発育の遅れが認められた。生後 14-17 日に行った行動学的検査では、MAP1A-/-マウスは握力、温度知覚、運動能、空間探索行動の明らかな低下を示し、さらに、生後 19-25 日に限定して全体の 65% (20 匹中 13 匹) が死亡した。
2. MAP1A ノックアウトマウスにおいては、脳の全般的な組織構築は保たれており、微小管の分布や密度、さらに海馬 CA1 領域でのシナプス密度、シナプス形態に明らかな異常は見られなかった。
3. しかし、凍結脳組織切片を抗 NMDA 型受容体 (NR2B) 抗体で染色した際には明らかな異常が認められ、野生型マウスではほとんど染色が認められないのに対し、MAP1A ノックアウトマウスでは錐体細胞の細胞体と尖側樹状突起に染色が認められた。これは、MAP1A ノックアウトマウスでは細胞骨格と結合していない NMDA 型受容体の割合が増

えていることを示すものと考えられた。また、ペプシン処理を行った後の組織切片を染色すると、野生型マウスでは放線状層において NR2B が粒状に強く染色されるようになった。しかし、MAP1A^{-/-}マウスではペプシン処理後の染色は野生型に比べ薄くなっていた。

海馬初代培養細胞では NMDA 受容体が斑点状に染色されるが、MAP1A^{-/-}マウス由来の海馬細胞では斑点が樹状突起本幹に分布し、シナプスが存在する樹状突起棘への分布が野生型に比べ有意に減少していた。これらの結果より、MAP1A^{-/-}マウスでは NMDA 受容体のシナプスへの分布に異常が生じていること、また、MAP1A^{-/-}マウスの示した神経学的異常は NMDA 受容体の異常に由来する可能性が示唆された。

4. 抗 MAP1a 抗体を用いた免疫沈降実験では、MAP1a の他に PSD-95、NR2B、チュブリン、アクチンが共沈し、これらの分子が生体内で結合していることが明らかになった。さらに、抗 PSD-95 抗体、抗 NR2B 抗体で免疫沈降反応を行ったところ、MAP1A^{-/-}マウスでは野生型マウスに比しアクチン、チュブリンの沈降量が明らかに減少していた。これより、ノックアウトマウスでは NMDA 型受容体と細胞骨格との結びつきが低下しており、そのために NMDA 型受容体のシナプスへの分布に異常が生じている可能性が示唆された。

以上より、本論文では、MAP1A 遺伝子欠失マウスの解析を通して、MAP1a 蛋白が NMDA 型受容体のシナプスへの分布に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究は、これまで未知に等しかった、細胞骨格蛋白とシグナル受容体蛋白との関連を明らかにし、シナプス形成のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。