

審査の結果の要旨

氏名 片岡 宏隆

本研究は、新線条体における N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体の自発運動の調節における役割を検討するために、新線条体特異的な遺伝子欠損法(*Cre/loxP* システム)を使用し、自発運動の変化を解析し、明らかになった変化の原因を組織化学や生化学的手法によって検討したものであり、下記の結果を得ている。

- 1、新線条体優位に発現する G protein  $\gamma 7$  subunit のプロモーターの直下に、Cre recombinase をコードする遺伝子を遺伝子標的法を用いて導入した *Gng7<sup>ncr</sup>* マウスの作成に成功した。このマウスをレポーターマウス (*CAG-CAT-ZII*) と掛け合わせた子供の脳を用いて  $\beta$ -galactosidase 活性を検討した結果、*Gng7<sup>ncr</sup>* マウスは新条体優位に遺伝子組み換えを引き起こすことが可能なマウスであることが示された。
- 2、NMDA 受容体の必須サブユニットである *GluR $\zeta$ 1* 遺伝子の第四膜貫通領域をコードするエキソン 19, 20 を挟む形で、Cre recombinase が認識する loxP 配列を二つ導入した *GluR  $\zeta$ 1<sup>flox</sup>* マウスを遺伝子標的法を用いて作成した。*Gng7<sup>ncr</sup>* マウスと *GluR  $\zeta$ 1<sup>flox</sup>* マウスを掛け合わせることで、*neostriatum - GluR  $\zeta$ 1 KO* マウスの作成を行った。この変異マウスでは、生後二週までに *GluR  $\zeta$ 1* 蛋白質の発現が、新線条体優位に欠損することが示された。
- 3、*neostriatum - GluR  $\zeta$ 1 KO* マウスは、生後三週以降に死亡し始め、生後五週までに全ての個体が死亡することが明かとなった。この増加した死亡率は、餌の位置をケージの蓋の上から床に移すことで、完全に改善されたことから、摂食するための行動に何らかの異常があるためである可

能性が示唆された。

- 4、 Open field を用いた二時間の自発運動量の測定から、*neostriatum - GluR  $\zeta 1$  KO* マウスでは、行動量がコントロールマウスの四倍に増加していることが明かとなった。しかしながら、運動量の増加は、測定開始後15分から60分までの間だけで明瞭であるので、恒常的に運動量が増加しているわけでは無いと考えられ、この自発運動量の増加は新環境依存的なものであると考えられた。
- 5、 Nissl 染色及び免疫組織化学的な解析から、*neostriatum - GluR  $\zeta 1$  KO* マウスの新線条体の形態は大まかに保持されており、新線条体の関わる神経伝達に必須な蛋白質の発現が認められた。さらに、組織化学や生化学的な解析により、ドーパミン作動系の活動が減少している可能性が示唆されたため、NMDA 受容体の欠損に伴う二次的な変化では無く、NMDA 受容体の欠損自体が自発運動量の増加をもたらした可能性が高いと考えられた。

以上、本論文は新線条体の NMDA 受容体が、外部からの新規刺激に対して適切に運動量を制御するために重要である可能性を示唆した。本研究は、これまで明確ではなかった新線条体の NMDA 受容体の自発運動に対する影響を、遺伝子工学的な手法を用いて解析した初めての例であり、新線条体依存的な行動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。