

論文審査の結果の要旨

きむ へす  
申請者氏名 金 秀

学習・記憶は動物の生存に欠かせない能力であり、神経細胞および神経回路の機能不全によるその破綻は、先進諸国における近年の最大の問題の一つである。したがって、学習・記憶形成に関する分子・細胞機構の解明に多くの努力が払われている。とりわけ、マウスにおける逆遺伝学の発展は、複雑な生命現象の機構の解明に有力な手段を提供している。

遅延型瞬目条件反射は古典的条件付けに分類される運動学習パラダイムであり、学習記憶機構を解析するモデルとして優れている。この学習記憶機構の素過程には小脳皮質における長期抑圧や小脳深部核細胞に生じる長期増強現象などの関与が議論され、多面的に解析されてきた。しかしながら、記憶痕跡の実態や、遅延型瞬目条件反射の分子・細胞機構の詳細な理解には至っていない。この分子機構の理解を深めることを目的として、本研究では、アストロサイト特異的 S100B および キメリンが遅延型瞬目条件反射機構で担う機能を解析した。

第一章では、グリア細胞の機能の観点から研究に取り組んだ。近年の神経科学において、グリア細胞が脳の情報処理に積極的に関わる証拠が提示されるに至り、大きな注目を集めている。その中には、アストロサイト特異的 S100B 欠損変異マウスにおける海馬 CA1 領域の長期増強、海馬依存的空間学習および文脈依存的恐怖の条件付けの亢進などが含まれる。

S100B は細胞外に分泌され、海馬では Receptor for Advanced Glycation End products (RAGE) に結合し、神経細胞の興奮性あるいは可塑性に関わる事が示唆されている。S100B が脳の領域を問わず、類似の機能を持つか否か明らかにする必要がある。S100B は小脳皮質のバークマングリアでとりわけ高レベルで発現することが注目される。小脳においても海馬と同様の機能を担うとすれば、小脳依存的運動学習に異常を示すと推察される。

この仮説の下、S100B 欠損変異マウスの小脳機能を解析した。このマウスは、小脳の形態に異常を示さず、小脳機能依存的パラダイムである協調的運動能力を評価するロタロッド試験および遅延型瞬目条件反射学習のいずれにも異常を示さなかった。これらの結果は、小脳の S100B が担う役割が海馬での役割と異なる事を示唆している。

第二章では、キメリンの役割に注目した。キメリンは *in vivo* における軸索投射

制御に必須な役割を果たすことが明らかとされた分子である。GTPase 活性化因子である  
-キメリンは、脳の発達期から生体にかけて広範な領域で発現する。in vitro の実験系  
によると、アクチン重合の制御を介して多様な機能を持つことが示唆される。樹状突起に  
も発現し、シナプス形成および可塑性に関与する事が示唆されているが、in vivo での証  
拠、成体脳での役割は明らかにされていない。

-キメリンが小脳プルキンエ細胞樹状突起に発現分布することが観察され、この分子  
が小脳プルキンエ細胞および小脳回路における運動学習に関連したシナプス可塑性に関  
与する可能性が考えられた。この仮説を検証するために、まず、-キメリンを欠損する  
Miffy マウスおよび -キメリン-ノックアウト(KO)マウスにおける瞬目条件反射学習を解  
析し、これらがいずれも顕著な不全を示すことを明らかにした。

-キメリン遺伝子は3箇所の転写開始点をもち、各々 1, 2, 3 のアイソフォー  
ムを産生する。この内、1 アイソフォーム固有の機能を明らかにするため、1 プロモ  
ーター領域を特異的に欠損させた 1-KO マウスを作成した。このマウスにおいては、  
1 アイソフォーム mRNA が消失した。しかしながら、瞬目条件反射学習に全く異常を示さ  
なかった。3 アイソフォームの発現は極めて微量であるので、これらの結果は、瞬目条  
件反射学習回路で主要な役割を担う分子が 2 アイソフォームであるか、あるいは 1 ア  
イソフォームと 2 アイソフォームは相互補完的である可能性が示唆された。

1 および 2 が共にプルキンエ細胞で有意に発現する。プルキンエ細胞における キ  
メリン分子の選択的役割を明らかにするため、プルキンエ細胞特異的 KO マウスを作成し  
た。プルキンエ細胞特異的 -キメリン-KO マウスでは、90%以上のプルキンエ細胞で  
-2 キメリンの発現が消失した。このマウスは瞬目条件反射学習を獲得するものの、瞬目  
反射のタイミングに異常を示した。これらの結果は、2-キメリンがプルキンエ細胞と、  
それ以外の瞬目条件反射回路で独立した機能を担うことを示唆している。この回路におけ  
る キメリンの作用点の同定は今後の課題として残された。

本研究の成果は、アストロサイトと神経細胞の相互作用の分子機構および役割に脳の領  
域による多様性が有る事の証拠を示し、キメリンが運動学習回路の形成もしくは機能的  
発現に必須な役割を担うことを明らかとしたものであり、運動学習の分子機構の理解に大  
いに寄与すると思われた。よって審査委員一同は申請者が博士(獣医学)の学位を授与す  
るに値すると認めた。