

論文審査の結果の要旨

氏名 菅野 康太

本論文は、Introduction、Materials and Methods、Results、Discussion、General Discussionの6章からなる。麻薬の標的でもあり、ヒトと動物の報酬や情動、認知機能に深く関与するドーパミン神経系、特にドーパミントランスポーター (DAT) がどのような因子によって調節を受け、行動機能に変化が生じるかということの解明を目指した。ヒトの DAT 遺伝子エクソン 15 の 3' 非翻訳領域 (UTR) には類似した約 40 塩基を 1 単位とする繰り返し配列の多型 (VNTR) が存在することが知られており、この多型と精神疾患および発達障害に対する相関研究が多くなされているが、この多型がどのような機構を介して精神疾患や気質に影響するのかといったことは全く未知であった。

論文提出者は修士課程においてHesr1およびHesr2というタンパク質がこのDAT・3' UTRを介してDAT発現を抑制する可能性を、ルシフェラーゼレポーター遺伝子を用いて示した。博士課程においては、*in vivo* でHesr1やHesr2がドーパミン神経系を介しどのような行動に影響を持つのかを明らかにすることを目的とした。

まず、マウスの脳を用いて免疫組織学的な解析を行い、Hesr1とHesr2のタンパク質が、殆ど全てのドーパミンニューロンに発現していることを示した。次に、Hesr1とHesr2のノックアウト (KO) マウスを用いて10種類の行動解析を行い、その結果、プレパルス抑制 (PPI) という感覚機能の変化を確認した。さらにドーパミンアゴニストを用いてPPIを調べると、PPIに対する用量依存的な効果に、野生型とKOで違いが見られた。つまり、アゴニストへの感受性が変化していた。PPIは統合失調症患者やそのモデルマウスで低下し、ドーパミンが関与することが知られており、このことからHesr1がドーパミン神経系で働いている可能性が考えられた。論文提出者は、DAT発現をHesr1が調整し、DAT発現に変化が起きた結果、Hesr1KOマウスではアゴニストへの感受性が変化したのではないかと考え、KOマウスの脳を用いてDATタンパク量を調べた。しかしながら、野生型との間で有意な違いはなかった。先行研究でHesr1KOマウスの出生日のDAT mRNA量はKOで有意に上昇していたという結果から考えると、発生段階におけるDAT発現変化の影響も考えられるが、審査会では、Hesr1が発現量を変える他の標的遺伝子についても今後調査する必要性があること、マウスにはヒトと違う機序が存在する可能性も指摘された。いずれにせよ、Hesr1がドーパミン神経系の機能を調節し、PPIに代表される認知機能、感覚調節機能に影響を与えている可能性を示したことは、新規の事実である。

さらに、論文提出者は、Hesr1 および Hesr2 が遺伝子発現を調節する分子機構を理解するため、DAT・3' UTRの中で、どの DNA 配列が Hesr1 に応答をするのかを、いくつかのドメインを欠損させた DAT レポーター遺伝子を用い、ヒト神経芽細胞の培養系で調べた。また、Hesr1 の機能がどんな状況で変化するのかを調べ

るため、Hesr1 の結合因子として知られるアンドロゲン（男性ホルモン）受容体との相互作用を同様の実験系を用いて調べた。その結果、VNTR 領域が Hesr1 と 2 に応答し、DAT 発現に対し抑制的に働くこと、Hesr1 や Hesr2 がアンドロゲン受容体と相乗的に DAT レポーター遺伝子発現を抑制することを示した。DAT 発現は雄で低く、雌で高いことが知られており、上記の Hesr とアンドロゲン受容体の相互作用は、この性差形成の分子機序の一つであることが示唆される。

論文提出者は Hesr1 遺伝子を欠損したマウスでドーパミンが関与する感覚・認知機能の変容があること、Hesr1 および Hesr2 とアンドロゲン受容体の協調は相乗的 DAT 遺伝子発現抑制効果を持つことを新規に発見した。以上のことは、これまで一般的な神経発生の因子と知られてきた Hesr ファミリーが精神機能の発達に関与する可能性、また、それら精神機能やその背景にある分子動態に性差が生じる機序の一端を独自に示したものと考えられる。

本論文は、全般にわたり石浦章一教授との共同研究で、マウスの行動解析は国立遺伝学研究所発生工学研究室および同研究所マウス開発研究室との共同研究であるが、動物と機材の提供以外の部分は全て論文提出者自身が実験と解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。