

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 パベル プロセルコフ

ヒト認知機能の発達において進化過程での遺伝子の多様化と神経回路特異的発現特性の獲得は根幹的意義を持つ。脊椎動物固有遺伝子の分子進化はとりわけ重要な役割を果たしたと考えられる。PAVEL PROSELKOV はこのような遺伝子として、同一遺伝子ファミリーに属し、独立した受容体を持ち、脳内での発現特性が相互排他的である特徴を持つシナプス因子 Netrin-G1 (*NTNG1*) と Netrin-G2 (*NTNG2*) に着目し、これらの分子進化過程を分析し、マウスにおける発現の多様性を明らかにし、さらにヒトの遺伝学的解析とマウスにおける遺伝子動態の解析を行った。これらの結果を元に、両遺伝子の分子進化が認知機能の進化に果たした意義を考察した。

まず、ヒトおよびマウスでは Netrin-G1m および Netrin-G2b が最長アイソフォームである事を明らかとし、これを基準として体系的にオーソログを探索し、分子進化の概要を明らかとした。Ntrin-G1 は NGL1 と Netrin-G2 は NGL2 と特異的に結合し、この結合の三次構造は解明されている。結合ドメインの特異的アミノ酸配列は、フグ (4.5 億年前) で初めて出現したこと、ヒト遺伝子の Exon(5-10) がパラログの多様化に大きく貢献したが、Exon6-7 が進化的に最も新しく、マウス (0.9 億年前) で初めて認められた。進化の歴史が若い Exon-Intron 構造に着目し、Netrin-G パラログの転写産物を詳しく解析し、以下の事を明らかとした。

- 1) 転写産物は極めて多様であり、マウス *Ntng1* には 3 クラス (GPI リンク型、GPI 非リンク分泌型、非コード型を併せて 19 種類) が、マウス *Ntng2* には 5 クラス (GPI リンク型、GPI 非リンク分泌型、非コード型、第二プロモータ転写型、単翻訳枠型を併せて 20 種類) が存在する。
- 2) Exons6-7 はアイソフォーム発現量比に大きく影響し、これらの Exons を含む *Ntng1* アイソフォームは含まないものに比べて多く、*Ntng2* においては逆の関係である。
- 3) 両遺伝子とも、GPI 非リンク分泌型は相対的に少なく、調節的役割が想定される。
- 4) アイソフォーム比は脳の領域間で異なる。

これらの結果は、両遺伝子が進化の過程で機能的に大きく多様化した事を示している。

PAVEL PROSELKOV はスプライシングによる多様な *Ntng* アイソフォーム形成がヒトの認知機能の発達に重要な意義を持ったこと、intron 内の塩基置換が Netrin-G の機能分化と認知機能獲得に貢献したとの仮説を立てた。この仮説に基づいて、11 個の SNP と WAIS-III 検査値との関連を解析した。*NTNG1* の Exon 5 下流に位置する rs2218404 と *NTNG2* の Exon 5 上流に位置する rs2274855 が統合失調症患者内での WAIS 値に有意な影響を示した。*NTNG1* SNP rs2218404 の (T/G と T/T) 患者は G/G 患者に比べて言語性 IQ、

全検査 IQ、言語理解で有意な低値を、*NTNG2* SNP rs2274855 の(A/G と A/A)患者は G/G 患者に比べて有意に言語性 IQ、動作性 IQ、全検査 IQ、作業記憶等で低値を示す事を明らかにした。

Ntng の発現に経験が影響するのか、そうであるなら *Netrin-Gs* 間に相互作用が有るのか明らかにする為、複数の行動解析パラダイムを経験あるいは経験しなかった老齢の野生型、*Ntng1-KO* および *Ntng2-KO* マウス、野生型アダルトで文脈依存的恐怖条件付け訓練を経験、電気ショックのみ経験あるいは飼育コントロール群について *Ntng1* および *Ntng2* の発現レベルを解析した。*Ntng2* 遺伝子は、加齢によって発現が顕著に増加し、認知訓練は一層の増加を促す傾向であり、短時間の電気ショックも有為な影響を示した。*Ntng1* 欠損により加齢と訓練による *Ntng2* 発現増強効果は消失した。*Ntng1* は加齢によってやや発現レベルの亢進を示したに留まり、*Ntng2* 欠損による影響も受けなかった。さらに、経験は脳重量の増加を野生型に誘導したが、この変化は *Ntng1-KO* および *Ntng2-KO* マウスに観察しなかった。これらの結果は、*Netrin-G1* と *Netrin-G2* が独立した機構で脳機能に貢献する事を示唆している。

以上の結果は、*Netrin-G1* と *Netrin-G2* の分子進化がヒトおよび高等脊椎動物における認知機能の発達で重要な役割を担い、相互補完的に働く事を示唆した。これらの研究成果は、獣医学学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値のあるものと認めた。