

論文内容の要旨

申請者氏名 村 尾 直 哉

Np95 は、Ubiquitin 様、Ring finger、SRA 等の異なるドメインをもつ多機能性核タンパク質である。Np95 は新規に合成された DNA 鎖のヘミメチル化部位を認識し DNA メチル基転移酵素 (DNA methyltransferase 1) をリクルートすることで、DNA のメチル化状態の維持に重要な役割を果たすことが報告されている。加えて、ヒストン脱アセチル化酵素やヒストンメチル基転移酵素等と相互作用することで、広くエピジェネティックな制御に関わっている。近年、成体海馬歯状回でのニューロン新生が、ヒストン修飾、ノンコーディング RNA、DNA のメチル化といったエピジェネティックな制御により調節されていることが明らかにされた。このことから、Np95 もエピジェネティックな制御を介して成体ニューロン新生に寄与し、学習・記憶形成の制御に関わっている可能性が強く示唆される。しかしこれまで、神経系における Np95 の機能はおろかその発現に関してもほとんど知られていない。そこで申請者は始めに、胎生期から成体までのマウス脳における Np95 の発現を解析した。その結果、胎生期における Np95 の発現は増殖性の神経幹細胞特異的であり、神経幹細胞より分化・成熟したニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトではほとんど発現していないことがわかった。さらに、成体脳においては、海馬歯状回に存在する成体神経幹・前駆細胞のうち、type 2a と呼ばれる増殖性の高い神経幹・前駆細胞において Np95 が高発現していることを明らかにした。

さらに申請者は、タモキシフェンの投与により成体神経幹細胞特異的に Np95 遺伝子欠損を誘導できるマウス (NestinCreER^{T2}/Np95^{lox/lox} マウス、Np95 cKO マウス) を用いて、Np95 の成体ニューロン新生への関与を調べた。その結果、Np95 の欠損により成体神経・前駆幹細胞の細胞増殖、およびニューロン新生の抑制が観察された。加えて、Np95 の欠損により神経幹・前駆細胞がニューロンへと分化する割合の減少、さらには成体神経幹・前駆細胞より産生された新生ニューロンの樹状突起の形成不全が起こることが明らかとなった。申請者はこのような Np95 の欠損による成体ニューロン新生の抑制がどのようなメカニズムで起こっているかを調べるため、Np95 cKO マウスの歯状回より RNA を抽出し、定量 PCR により成体ニューロン新生に関与することが報告、若しくは予想される遺伝子の発現変化を調べた。その結果、Np95 cKO マウスの歯状回では、炎症性サイトカインでありニューロン分化を抑制する腫瘍壊死因子- α (Tumor necrosis factor- α)、インターロイキン-1 β (Interleukin-1 β) や細胞増殖を抑制するサイクリン依存性キナーゼインヒビター p21 の発現上昇、およびニューロンの成熟に重要な Sox4 の発現低下が観られた。以上の結果より、Np95 はこれらの遺伝子の発現制御を介して成体神経幹・前駆細胞の増殖、ニューロン新生、ニューロン分化、さらには新生ニューロンの成熟を制御していることが示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 村 尾 直 哉

成体ニューロン新生は側脳室周囲及び海馬歯状回と呼ばれる特定の領域において、成体神経幹細胞より一生涯に渡り新しいニューロンが生み出され続ける現象である。特に、海馬歯状回におけるニューロン新生は学習・記憶、情動行動だけでなく、うつ、てんかん、統合失調症など多くの脳疾患と密接に関与することから、成体において非常に重要である。申請者は、この成体ニューロン新生においてその重要性が報告されているエピジェネティクス機構、特に DNA メチル化に着目し本研究は行われた。

Np95 は、多数の異なるドメインをもつ多機能性核タンパク質であり、DNA のメチル化状態の維持に必須なタンパク質である。加えて Np95 は、ヒストン脱アセチル化酵素やヒストンメチル基転移酵素等と相互作用することで、広くエピジェネティックな制御に関わっている。このことから、Np95 がエピジェネティックな制御を介して成体ニューロン新生に寄与し、学習・記憶形成の制御に関わっている可能性が強く示唆される。しかしこれまで、神経系における Np95 の機能はおろかその発現に関してもほとんど知られていなかった。そのため申請者は、胎生期から成体までのマウス脳における Np95 の発現を解析し、マウス脳における Np95 の発現は増殖性の神経幹細胞特異的であり、神経幹細胞より分化・成熟したニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトではほとんど発現していないことを明らかにした。さらに興味深いことに、成体脳においては、海馬歯状回に存在する成体神経幹・前駆細胞のうち、type 2a と呼ばれる増殖性の高い神経幹・前駆細胞において Np95 が高発現していた。以上の結果は、Np95 が増殖性神経幹細胞の新規マーカーとなり得ることを示しており、今後の神経幹細胞研究におけるマーカータンパク質としての Np95 の有用性を示すに至った。加えて申請者は、タモキシフェンの投与により成体神経幹細胞特異的に Np95 遺伝子欠損を誘導できるマウス (NestinCreER^{T2}/Np95^{flax/flax} マウス、Np95 cKO マウス) を用いて、Np95 の成体ニューロン新生への関与を調べた。その結果、Np95 cKO マウスにおいて、成体神経幹・前駆細胞の増殖やニューロン新生、ニューロン分化、さらには新生ニューロンの成熟の顕著な抑制が観察された。加えて、Np95 cKO マウス歯状回における遺伝子発現解析より、Np95 は炎症性サイトカインでありニューロン分化を抑制する腫瘍壊死因子- α (Tumor necrosis factor- α)、インターロイキン-1 β (Interleukin-1 β) や細胞増殖を抑制するサイクリン依存性キナーゼインヒビター p21 の発現上昇、およびニューロンの成熟に重要な Sox4 の発現低下を介して成体ニューロン新生における多くのステージを制御している可能性が示唆された。

以上のように、本論文は中枢神経系における Np95 の発現、および成体ニューロン新生における役割とその重要性を初めて明らかにしたもので、学術上、応用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 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。