

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 阿 部 智 佳 羅

論 文 題 目

環境要因が及ぼすマウス脳内ポリシアル酸
の変動とそのメカニズムの解明

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	佐 藤 ち ひ ろ
委 員	名古屋大学教授	北 島 健
委 員	名古屋大学教授	中 野 秀 雄
委 員	名古屋大学講師	兒 島 孝 明
委 員	名古屋大学教授	岡 島 徹 也

論文審査の結果の要旨

ポリシアル酸(polySia)はシアル酸が8~400残基縮重合したポリマーであり、神経細胞接着分子(NCAM)を修飾している。PolySiaは胎児脳で主に発現しており、成体脳ではそのほとんどが消失するが、成体脳でも嗅球や海馬など可塑性の高い領域の一部で発現が維持していることが知られている。PolySiaは大きな排除体積をもつことにより細胞間相互作用を妨げる反接着機能が知られている。また近年ではpolySiaがBDNF、FGF2、ドーパミンなどの神経作用因子を一時的に保持し、その受容体への提示機能を制御することが明らかになり、これらのpolySiaの複合的な機能が正常脳機能の維持に重要であることが考えられている。一方、polySiaは様々な病気との関連性が知られている。例えば統合失調症患者やうつ病患者の死後脳における海馬においてその発現量が低下していることが報告されている。またpolySia鎖を生合成する酵素であるポリシアル酸転移酵素の一種、ST8SIA2遺伝子上に、精神疾患患者に有意な一塩基多型(SNP)や変異がいくつか報告されている。*in vitro*におけるST8SIA2遺伝子の野生型およびSNPや変異体の解析により、野生型に比較してpolySiaの発現量、鎖長およびその機能が低下することが明らかになっている。即ち、精神疾患の遺伝的要因としてのST8SIA2遺伝子の不全がpolySia鎖の不全を引き起こすことが明らかになりつつある。一方、統合失調症などの精神疾患は遺伝子要因のみならず、環境要因によるリスクを考える必要がある。しかし、polySia発現と環境要因の関連性については明らかになっていないことが多い。そこで本論文ではマウスを実験動物として用い、環境要因がマウス脳内polySia発現にどのような影響を及ぼすのか、その分子メカニズムとともに解明することを目的としている。

第2章では、精神疾患のリスクを高める代表的な環境要因であるストレスに着目し、急性ストレスによるマウス脳内polySiaの発現に対する影響を調べた。マウスに対して尾懸垂試験(TS)を行うことで急性ストレスを与え、その後polySia含有領域である嗅球(OB)、前頭前野(PFC)、視床下部(SCN)、扁桃体(AMG)、海馬(HIP)を回収し、特異性の異なる2つの抗体を用いてpolySiaの検出、比較解析を行っている。その結果、OB及びPFCではTSによりpolySiaの長さが減少し、SCNではpolySiaの量(本数)が増加する一方、AMGやHIPでは変化がなかった。即ち7分間の急性ストレスにより脳領域特異的にpolySia鎖がダイナミックに変動することが明らかとなった。その分子メカニズムを明らかにするために、まず遺伝子発現を検証している。その結果、SCNではポリシアル酸転移酵素ST8SIA4遺伝子の発現の増加が見られたため、酵素の遺伝子発現がpolySia鎖の増加を導くことを明らかにした。また、polySia鎖の単体タンパク質であるNCAMの遺伝子量やタンパク質量の変動を見たところ、polySia鎖の減少が見られたPFCやOBで変動がなかった。従って、NCAMの発現量の変動やシェディングが関わっていないことを明らかにした。これまでミクログリア細胞がもつシアリダーゼがpolySiaの減少に関わるということが培養細胞系で明らかになっていたた

め、そのメカニズムが動物個体におけるストレス下でも関与している可能性を追求するために、シアリダーゼ阻害剤やミクログリアの活性化の阻害剤をマウスに投与し polySia 鎖の急性ストレス下における変動を解析した。その結果 OB 及び PFC いずれもシアリダーゼ阻害剤によって polySia の減少が抑制されることがわかり、また、OB ではミクログリアの活性化の阻害剤でも抑制効果が見られていた。アストロサイトの可能性を明らかにするためにアストロサイトの阻害剤を投与したところ、polySia の減少が抑制されることが明らかになった。以上の結果より、急性ストレスにおける OB 及び PFC の polySia 減少はシアリダーゼの分泌によって切断されることは共通していたが、シアリダーゼの分泌細胞が領域によって異なることを初めて明らかにした。第 3 章では、統合失調症の治療薬であるクロルプロマジン(CPZ)によるマウス脳内 polySia への影響について調べ、PFC にのみの polySia の増加を明らかにした。第 4 章では、野生に近い環境で飼育する環境エンリッチメント(EE)によるマウス脳内 polySia 変動について調べ、離乳直後のマウスに対し EE 及び通常のケージで 2 ヶ月間飼育を行うことで、EE 環境をつくり、鬱の程度を測定した。その結果、鬱が軽減し、更に OB 及び PFC の polySia の長さが増加することを明らかにした。第 5 章では、様々な食品成分(*N*-アセチルノイラミン酸 Neu5Ac、チアミン、グリシン、グルテン)の摂取によるマウス脳内 polySia への影響について調べることにより、食品成分における TS による鬱傾向の改善やそれに伴う脳領域特異的な polySia 鎖の変動を明らかにした。

以上の結果より、阿部智佳羅は環境要因によってマウス脳内 polySia は領域特異的に変動を受けること、またその変動は環境要因の種類によって異なり、更に別種類の環境要因によっても影響を受けるなど、複雑な制御メカニズムが働いていることを明らかにした。特に、急性ストレスにおいては、polySia がミクログリアやアストロサイトのシアリダーゼによる切断を受けその重合度が制御されること、その後もとの状態へと回復することなど、polySia 鎖の精緻な制御メカニズムを明らかにした。本研究により、脳内 polySia の検出プローブを開発することで今まで分子レベルでの解析が困難だった精神疾患の新たな診断方法の開発や polySia の観点から見た新たな精神疾患の治療法や予防法が開発が期待され、本研究は基礎および応用科学における今後の展開に高いポテンシャルをもつ。したがって、審査委員会は本論文が博士(農学)の学位論文として十分な価値を有すると認め、論文審査に合格と判定した。