

別紙1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 Anthony Israel Ariza Andrade

論 文 題 目


Phosphorylation of Npas4 by MAPK Regulates Reward-Related Gene Expression and Behaviors

(MAPKによるNpas4のリン酸化は報酬関連の遺伝子発現と行動を制御する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

木山博資 

名古屋大学教授

委員

竹本マヤカ 


名古屋大学教授

委員

久場博司 

名古屋大学教授

指導教授

貝淵弘三 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2





本研究では、報酬学習・記憶に関与する転写因子を特定するため、転写共役因子 CREB-binding protein (CBP) を固相化したアフィニティカラムを用いてプロテオーム解析を行い、CBP 相互作用タンパク質として転写因子 Neuronal Per Arnt Sim domain protein 4 (Npas4) を同定した。側坐核のドーパミン D1 受容体を発現する中型有棘神経細胞 (D1R-MSN) において、MAPK が Npas4 をリン酸化することで CBP との結合及び転写活性を増強し、報酬学習・記憶を強化することを見出した。本研究に対し、以下の点を議論した。

1. Npas4 の発現が神経細胞種特異的かどうかを検討するため、コカインにより条件付けを行った後の Drd1-mVenus 又は Drd2-mVenus マウスにおける Npas4 の発現を比較した。側坐核で Npas4 を発現する細胞の 75%以上が D1R-MSN 陽性であり 25%未満が D2R-MSN 陽性であった。次に、Cre リコンビナーゼ依存的に Npas4 のドミナントネガティブ変異体 (DN) を発現するアデノ随伴ウイルスを Drd1a-Cre 又は Arora2a-Cre マウスの側坐核に注入し、D1R-MSN 又は D2R-MSN 特異的に Npas4 の機能を抑制するマウスを作製した。条件付け場所嗜好性試験を行った結果、D1R-MSN で Npas4 の機能を抑制したマウスでは、報酬学習・記憶能力が有意に低下した。一方、D2R-MSN で Npas4 の機能を抑制したマウスでは、報酬学習・記憶能力に差は認められなかった。よって、Npas4 は D1R-MSN において、報酬学習・記憶を制御することが示唆された。
2. BDNF プロモーターを用いたレポーターアッセイにより、MAP2K1-CA の発現または cAMP 活性化薬の処理によって Npas4 をリン酸化させることで、Npas4 の転写活性が増大することを示した。同様に、Npas4-WT と比較して Npas4-6A 変異体は転写活性の低下を示したが、Npas4-6E 変異体は転写活性の増大を示した。これらの結果は、MAPK による Npas4 のリン酸化が Npas4 の転写活性を増強することを示唆する。
3. CBP には多くの機能ドメインがあるが、その中でも KIX ドメインはリン酸化された CREB やその他の転写因子と結合して転写を活性化する領域である。また、側坐核において CBP を欠損したマウスでは報酬学習・記憶能力が低下することが報告されている。したがって、本研究では CBP に結合する転写因子が報酬学習・記憶の関連遺伝子の活性化にとって重要であると推測し、CBP 結合ンパク質として Npas4 を同定した。Npas4 がリン酸依存的に CBP と結合し、BDNF などの遺伝子発現の活性化に重要であることを示した。

本研究は、報酬学習・記憶の制御機構を理解する上で、重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	Anthony Israel Ariza Andrade
試験担当者	主査	木山博資 	副査 ₁	竹本さや子 
	副査 ₂	久場博司 	指導教授	貝淵弘三 
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. コカイン報酬おけるNpas4の機能がD1R-MSN又はD2R-MSNに特異的かどうかについて。 2. Npas4のリン酸化が遺伝子発現活性化に関与するかどうか、具体的に転写活性化におけるNpas4リン酸化擬似変異体の効果について。 3. CBP-KIXへの結合が報酬関連遺伝子の活性化に重要かどうかについて。 <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、神経情報薬理学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				