

胎児期大脳皮質と成体期視床下部の前駆体細胞の 増殖制御機構の解析

学位論文内容の要旨

脳内における細胞増殖は神経基盤ネットワークの構築過程である胎児期の発生に必須のステップである。さらに成体脳においても多くの領域において様々な種類の前駆体細胞が存在し、増殖を繰り返しており、脳機能の発現に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。例えば海馬の歯状回においては神経前駆体細胞が増殖、分化し、記憶の保持や気分の調節などに関わることが示唆されている。従って、脳機能発現に関わる分子の細胞増殖における役割を解明することは脳機能の発現とその破綻の理解に貢献できると考えられる。

DISC1 はスコットランドにおける精神疾患 (DSMIV に基づいた診断による) 多発大家系における遺伝学的研究によって発見された。細胞内の多くのタンパク質と相互作用し、脳神経の発達を含む多様な中枢神経機能に関わる分子であると考えられている。DISC1 は特に細胞増殖の制御にも関わる可能性が示唆されており、GSK3 β との相互作用を介して胎児期における細胞増殖および、成体海馬の神経前駆体細胞の増殖を制御していることが報告された。しかしながら、DISC1 を介した細胞増殖制御の詳細な分子機構や様々な細胞内外シグナルとの関連性、および脳機能との関連についてはほとんど解明されていない。そこで本博士論文では DISC1 の細胞増殖における役割に着目し、DISC1 を介した胎児期における細胞増殖が DISC1 のリン酸化によって制御されていることを見出した。さらに DISC1 が GSK3 β との結合を介してだけでなく、核内における PML (promyelocytic leukemia protein) との結合を介した別の経路を介しても胎児期における細胞増殖を制御し、この経路は脳発達障害を引き起こすとされるサイトメガロウイルス感染によって阻害される可能性を見出した。さらに成体脳においては気分や食欲、睡眠などの調節に関わる視床下部に着目し、視床下部に存在する増殖細胞の種類とこの細胞群における発現を明らかにし、細胞増殖調節機構と視床下部の機能との関連性についても研究を進めたので報告する。

DISC1 のリン酸化による胎児期大脳皮質の細胞増殖制御機構の解明

DISC1 は GSK3 β と結合し、Wnt/ β -Catenin pathway を介して胎児期の細胞増殖を制御することが報告されていたが、さらにジョーンズホプキンス大学の Sawa 教授らは DISC1 の 710 番目のセリン残基 (S710) がリン酸化修飾を受け、この S710 がリン酸化を受けると DISC1 と GSK3 β との結合量が減少することを見出した。そこで私は胎児期大脳皮質において S710 のリン酸化状態の制御によって、DISC1 を介した細胞増殖調節機構が制御されるとの仮説を立て、*in utero* electroporation 法を用いて検証を行った。その結果、DISC1 の脱リン酸化により細胞増殖が亢

進し、リン酸化を受けると細胞の増殖が終止することを見出した。

DISC1 の PML との結合を介した胎仔期大脳皮質の細胞増殖制御機構の解明

DISC1 は核内では PML body と呼ばれる核内構造物に多く局在し、さらに PML と結合することが明らかになっている(未発表)。PML は広くがん抑制因子としてその機能が知られているが、ウイルス感染などの細胞外シグナルに応答して細胞増殖、アポトーシス、遺伝子発現制御など様々な機能に関わることが報告されている。そこで DISC1 が GSK3 β との相互作用を介してだけでなく、PML との相互作用を介しても胎児期大脳皮質における細胞増殖を制御するとの仮説を立て、*in utero* electroporation 法を用いて検証を行い、DISC1 が PML との相互作用を介しても細胞増殖を制御することを見出した。さらに DISC1 と PML との相互作用は生後の脳発達に影響を及ぼすとされるサイトメガロウイルス(CMV)感染の初期遺伝子産物である IE1 により阻害されるが(未発表)、実際に IE1 が胎仔期大脳皮質における前駆体細胞の増殖を阻害することを見出した。

成体期視床下部における増殖細胞の探索的解析

前駆体細胞の増殖は成体期の脳においても様々な脳領域において見られ、さまざまな脳機能発現に関与している可能性が示唆されている。本研究では気分、食欲、睡眠など様々な生理機能の調節に関わる視床下部に着目し、視床下部においても細胞の増殖が観察され、これらは NG2 や Olig2 を多く発現するオリゴデンドロサイト前駆体細胞であることを明らかとした。さらにこれらの細胞は抗うつ剤 SSRI の慢性投与により増加することを見出し、DISC1 を多く発現する細胞群であることを見出した。

【まとめ】

本研究では細胞増殖における DISC1 の機能に着目して研究を進め、胎児期における神経幹細胞の増殖を2つの異なる分子経路によって調節していることを明らかにした。1つ目は報告されていた GSK3 β との結合を介した経路であり、さらに DISC1 のリン酸化によって制御されることを見出した。さらに PML との結合を介した異なる経路によっても細胞増殖を制御することを見出した。このことから DISC1 が生理的条件下における神経前駆体細胞の増殖制御だけでなく、細胞内(細胞の種類など)や細胞外(異なる脳領域や様々な環境など)の様々な状況下において細胞の増殖を制御し得る可能性が示唆された。さらに本研究では成体期の視床下部に視床下部におけるオリゴデンドロサイト前駆体細胞を同定し、抗うつ薬投与により増加し、DISC1 を多く発現する細胞群であることを見出した。今後、実際に視床下部のオリゴデンドロサイト前駆体細胞の増殖を制御するか検討し、この細胞群における DISC1 の発現をノックダウンしたときの行動解析を行うことなどにより、視床下部増殖細胞の機能解明にもつながることが期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 鈴 木 利 治

副 査 教 授 南 雅 文

副 査 准教授 山 本 融

副 査 教 授 澤 明 (ジョンズホプキンス大学)

学 位 論 文 題 名

胎児期大脳皮質と成体期視床下部の前駆体細胞の 増殖制御機構の解析

胎児期における脳内細胞増殖は、神経回路の形成等に必須のステップであるが、近年、成体脳においても、様々な脳領域で増殖細胞が脳機能の維持や修飾に機能を果たしていることが明らかになりつつある。これらの増殖細胞の制御異常は、様々な神経・精神疾患と関連する可能性が示唆されているが、詳細な解析はなされていない。本博士論文では、1. マウス胎仔期大脳皮質で生じる神経前駆体細胞の増殖制御機構を解明した。具体的には、精神疾患多発家系における責任遺伝子として同定された Disrupted-In-Schizophrenia (DISC1) のリン酸化が、Wnt/ β -catenin signaling を介した細胞増殖を制御する仕組みを見だし解析した。さらに、DISC1 は核内で promyelocytic leukemia protein (PML) と相互作用を行う事で神経前駆体細胞の増殖を制御することを見いだした。また、サイトメガロウイルス (CMV) 感染が DISC1 と PKML の相互作用を阻害し細胞増殖を抑制することを見いだした。これは CMV 感染による脳の発達障害が細胞増殖の抑制による可能性を示唆し、発達障害に伴う精神疾患の発症機構に新たな視点を加える成果である。

成体脳においては、海馬における神経細胞新生が広く研究されているが、精神疾患に関わり、気分、睡眠、食欲、概日リズムなどの調節に関わる視床下部における細胞新生は未解明であった。視床下部は多数の神経核からなり、中心である第三脳室周辺は、成体期においても細胞増殖が活発であることが示唆されている。しかしながら、増殖細胞の種類、動態、制御機構、機能はほとんど解明されていない。本研究では、視床下部の増殖細胞の解析を進め、視床下部における増殖細胞は主にオリゴデンドロサイト前駆細胞であり、抗うつ薬 (SSRI) 投与によって増加し、DISC1 を多く発現する細胞群であることを見いだした。オリゴデンドロサイト前駆細胞で発現する DISC1 が、神経前駆体細胞で発現する分子と同じアイソフォームであるかは未同定であるが、DISC1 が視床下部のオリゴデンドロサイト前駆細胞にも多く発現し、SSRI が増殖を制御していることの発見は、うつ病の発症機構と治療薬の新たな作用機構の解明に貢献する知見であり、薬学領域の博士号に相当する極めて重要な研究である。

これは、ようするに、著者は脳内増殖性細胞が脳機能、精神疾患に関わる新たな知見を見だし、その制御を通した新たな創薬手法の可能性を示したもので、解明が遅れている脳・精神疾患の発症機構に基づいた創薬開発という観点で貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士 (生命科学) の学位を授与される資格があるものと認める。