

## 審査論文の要旨

可塑性は、入力の変化に応じて活動依存的に構造の再編成をうこらうことによって、その反応を変化させることができるという中枢神経系にみられる特徴のひとつである。このような神経の可塑性に基づく反応が起る際には、機能的及び構造的変化が伴うことが生理学的あるいは解剖学的に明らかとなってきた。長期増強現象 (LTP) やキンドリングの誘導や維持によるは、細胞外マトリクスタンパク質や細胞接着因子等のプロテアーゼによる分解や構造的多様性を示す糖鎖の付加のようにより可塑的変化する。変化が調節されていると考えられる。近年、いくつもの細胞接着因子がシナプス前及び後膜に存在することが明らかとなってきた。加えて、海馬における LTP の形成過程には、カドヘリン、インテグリン、NCAM や LI といった細胞—細胞外マトリクスタンパク質間の相互作用が関与していることが明らかになっている。

本研究では、扁桃体電気刺激によるキンドリング動物を用いて、細胞外マトリクスタンパク質の再構築に関与する遺伝子の検索を行った。キンドリングとは、てんかん発作の動物モデルで、軽微な電気刺激を反復して加えていくことで、脳波に異常をきたし、ついには全身性の痙攣発作を引き起こす神経可塑性のモデルである。

始めに、セリンプロテアーゼの一種であるニューロプシン遺伝子について注目した。ニューロプシンはマウス海馬より単離され、フィブロネクチンを含む細胞外マトリクスタンパク質を分解することが知られており、加えてフィブロネクチンはキンドリング後、発現増加することが報告されている。そこで、本研究では、キンドリング形成後のニューロプシン遺伝子の発現変化を *in situ* ハイブリダイゼーション組織化学法を用いて検討した。その結果、ニューロプシン遺伝子は、海馬において活動依存的にその発現量が顕著に増加し、梨状様皮質や嗅内皮質において新たな発現が認められた。このような神経活動依存的なニューロプシン遺伝子の発現分布の特異的な発現分布から、ニューロプシンがマウス海馬において神経の再構築に影響を与えていると考えられた。

第二に、糖タンパク質及び糖脂質におけるシアル酸は、様々な生物学的機能に必要な細胞間相互作用に重要な役割を果たしていることが知られている。脳における糖タンパク質及び糖脂質におけるシアル酸付加は、神経可塑性に影響を与えることが示唆されている。シアル酸が付加され、糖鎖構造を合成する酵素として、18種類のシアル酸転移酵素が単離されている。しかし、それぞれの酵素が複数の基質を有していることや複数の酵素が、同じ分子を基質に活性を示すことから、シアル酸転移酵素の分布は、特異的なシアル酸付加を研究する上で、重要であると考えられる。本研究では成熟マウス海馬において、RT-PCR 法により同定された7種類のシアル酸転移酵素 (ST3Gal I-IV, ST8Sia IV, ST6Gal I, ST6GalNAc II) について、*in situ* ハイブリダイゼーション組織化学法を用いて、脳内における分布を明らかにした。この結果より、それぞれの細胞が適したシアル酸転移酵素を発現していることが示唆された。さらに、神経可塑性のモデル動物として知られている扁桃体刺激によるキンドリング動物を用いて、シアル酸転移酵素が、神経活動に依存してその遺伝子発現が変動することを検討した。キンドリング後の海馬において、ST3Gal IV 及び ST6GalNAc II 遺伝子は著しく増加し、ST3Gal I 及び ST8Sia IV 遺伝子は減少したことが観察された。これらの結果から、シアル酸転移酵素の発現が生理学的な神経活動を調節し、神経可塑性に対し重要な役割を担っている可能性が示唆された。

同部

審査結果の要旨

長期にわたる記憶の形成・保持には、神経細胞における構造面での可塑的变化、すなわち脳内の局所的な神経回路における新たな接続が必要であると考えられており、近年、様々な機能蛋白質がその候補として挙げられている。神経可塑性の現象には細胞構造の変化、神経突起伸展およびシナプスの構築・分離が行われると考えられる。そのメカニズムとして、細胞接着因子・細胞外マトリクス蛋白質・様々な膜タンパク質及び脂質の分解、あるいは構造的多様性を示す糖鎖が付加が重要であると考えられ、この機構を担うタンパク質分解酵素及び糖鎖転移酵素の解析が期待される。

本研究により、神経可塑性モデル動物であるキンドリング動物において、タンパク質分解酵素の一種であるニューロプシン遺伝子の発現が、顕著に増加するかまたは新たに出現することが明らかになった。このことは、ニューロプシン遺伝子の発現が活動依存的に増強することを示しており、神経可塑性に関わる因子の一つになり得ることを示唆している。また、タンパク質や脂質にシアル酸を付加する、7種類のシアル酸転移酵素を、正常成熟マウス海馬より単離した。全てのシアル酸転移酵素遺伝子は海馬においてそれぞれ異なる発現分布をしており、更にキンドリング形成後、各遺伝子の発現変動の様式もそれぞれ異なることが明らかになった。このことは、シアル酸転移酵素がシアル酸の付加を触媒することから、活動依存的に変化するシアル酸付加が神経の可塑性に関わる因子の一つになり得ることを示唆している。

以上のように、本論文は、神経可塑性に関与する生理学的形態学的変化の分子機構解明の一助となるもので、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。