

論文審査の結果の要旨

氏名 朴 燦賢

(Park Chanhyun)

線虫 *Caenorhabditis elegans* は、塩濃度などの環境条件を餌の有無と関連付けて記憶し、その後の探索行動を調節する連合学習を示す。例えば、塩走性学習と呼ばれる行動では、餌がある条件下で経験した塩 (NaCl) 濃度に誘引され (餌あり学習)、逆に餌のない条件下で経験した塩濃度を忌避するようになる (餌なし学習)。塩走性学習の機構は、餌なし学習に関わる因子が明らかになってきた一方、餌あり学習の分子メカニズムはあまりわかっていなかった。最近になり、CIC 型クロライドチャンネルをコードする *clh-1* 遺伝子のミスセンス変異 (以下、点変異と記述) が餌あり学習にのみ異常をもたらすことが示されたが、その詳細は調べられていなかった。本論文は、線虫の塩走性行動に CIC 型クロライドチャンネルが必要であることを示し、その制御メカニズムの解析について述べられている。

本論文は大きく 3 つの内容からなる。第 1 に、線虫の餌あり塩走性学習に異常をもたらす *clh-1* 点変異の性質を遺伝学的に解析している。点変異の性質を調べるために、*clh-1* 遺伝子の欠失変異体の塩走性表現型を調べた結果、欠失変異体は点変異体とは異なり塩走性に異常を示さなかった。また、野生型と点変異のヘテロ接合体は正常な塩走性表現型を示し、点変異が潜性であることが示唆された。一方、点変異型 *clh-1* のコピー数が半分になる点変異と欠失変異のヘテロ接合体は、点変異体より弱い塩走性異常を示した。さらに、野生型線虫に点変異型 *clh-1* ゲノム DNA を導入すると低塩走性異常をもたらされた。これらの結果から、塩走性に異常をもたらす *clh-1* 点変異が neomorphic、もしくは hypermorphic であることが示唆された。

第 2 に、塩走性における CLH-1 の機能を調べている。最初に、CLH-1 が機能する細胞の同定を試みた。*clh-1* 点変異体で細胞特異的に野生型 *clh-1cDNA* を発現させる機能回復実験を行ったところ、ASER という味覚神経で行動異常が回復することが判明した。ASER は塩濃度が低下すると活

性化され、塩濃度が上昇すると不活性化される塩濃度感覚神経であり、塩走性学習において中枢的な機能を果たすことが知られている。続けて論文提出者は、アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた電気生理学実験により、点変異が CLH-1 のチャネルの性質に与える影響を調べた。その結果、野生型と点変異型にはクロライドチャネルとしての性質に大きな差は見られなかった。一方、ASER の細胞内クロライド濃度変化を観察したところ、*clh-1* 点変異体は塩濃度低下刺激による細胞内クロライド濃度の変化が大きかった。さらにカルシウムイメージング実験を行った結果、*clh-1* 点変異体の ASER は、反復する塩濃度変化刺激に対する細胞の応答性が低下していることが明らかになった。以上の結果から、塩走性において CLH-1 が ASER で機能し、塩刺激に対する神経応答の制御にかかわっていることが示された。

第 3 に、CLH-1 が線虫の行動にどのように寄与するか調べている。走性行動において、線虫は klinokinesis と klinotaxis という二つの行動機構を用いることが知られている。klinokinesis ではピルエットと名付けられた急な方向転換が行われ、その頻度を調節することにより線虫は好ましい環境へ向かう。一方 klinotaxis では、なだらかで持続的に続くカーブが行われ、その向きおよび曲率が調節される。塩走性時の行動を解析した結果、*clh-1* 点変異体はいずれの行動機構についても著しい異常を示し、*clh-1* 点変異体を示す塩走性行動異常は klinokinesis と klinotaxis の欠如に起因することが明らかになった。さらに、ASER のポストシナプス介在神経のひとつで、ピルエットを制御する AIB についてその神経活動と線虫の行動を同時にイメージングした結果、*clh-1* 点変異体は塩濃度上昇刺激に応じた AIB の神経活動や後退行動に異常を示した。これらの結果から、点変異による CLH-1 の機能変化が神経系の塩刺激に対する応答を阻害し、塩走性行動に異常をもたらすことが示された。

以上、本研究は線虫 *C. elegans* の塩走性学習に着目し、*clh-1* による制御メカニズムを分子・神経・行動レベルで解析した。本研究において注目された CIC 型クロライドチャネルは種を越えて保存されており、動物一般における学習原理の理解の端緒になると期待される。また、ヒト CIC チャネル遺伝子の変異は先天性疾患との関係性が知られている。本研究で見いだされた CLH-1 の機能に対する理解は、ヒトの神経系における CIC タンパク質の機能の理解や CIC タンパク質がかかわる疾患の理解において非常に有用であり、今後の神経科学および医科学へ大きく寄与するものである。

なお、本論文は櫻井祐樹・佐藤博文博士・神田真司准教授・飯野雄一教授・國友博文准教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を遂行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。