

論文審査の結果の要旨

氏名 ベルゴリオ エミリア

本論文は主に3部（序章、結果、考察）からなる。序章では、本研究の主たる研究対象であるDCLK1（Doublecortin-like kinase 1）遺伝子のゲノム構造およびスプライシング様式について解説し、さらにDCLK1遺伝子の変異と精神神経疾患との関連、各DCLK1アイソフォームに関するこれまでの知見が記載されている。

結果の章では、まずマウス大脳皮質の発生過程に着目し、スプライシングによりDCLK1遺伝子から生み出される4つの異なるアイソフォームであるDCLK1-L、DCL、CPG16、CARPの発現量がどのように変化するかについて検討を行った。具体的には、次世代シーケンサーにより無作為に解読されたマウス大脳皮質の遺伝子情報を利用して、各DCLK1アイソフォームをコードする遺伝子配列に特徴的なギャップシーケンスのリード数を算出することにより、各アイソフォームの発現レベルを定量的に解析した。その結果、DCLK1-L遺伝子は胎生期から発現しその後も安定して発現し続けること、DCLは胎生期に強い発現が認められるが出生直前に急激に発現が低下すること、逆にCPG16は出生後に急激な発現上昇が見られることを示した。更に、特異的抗体を用いたウェスタンブロッティングにより、この各アイソフォームの転写産物の発現量変動は、各転写産物がコードするタンパク質の発現量変動と概して一致することを示した。

次に、*in situ*ハイブリダイゼーション法を用いて、マウス大脳皮質における各DCLK1アイソフォームの発現分布について解析を行った。具体的には、各DCLK1アイソフォームをコードするmRNAに対して特異的に結合するプローブを設計することが不可能なので、2つのアイソフォームに対して結合しうるプローブを4つ設計し、その組み合わせから、個々のアイソフォームの発現分布を類推することを試みた。その結果、出生後のマウス大脳皮質では、DCLK1-Lが比較的下層部に局在するのに対してCPG16は上層部に分布することを見出した。更に興味深いことに、海馬領域では各アイソフォームの分布が大きく異なり、DCLK1-Lは海馬全体に発現が見られるのに対して、DCLは歯状回、CPG16はCA1-3領域に局在していることを発見した。

次に、胎児期のマウス大脳皮質ニューロンに各アイソフォームを過剰発現させることにより、*in vivo*レベルの機能推定を行った。その結果、DCLK1-Lアイソフォームの過剰発現は新生ニューロンの大脳皮質層移動に異常をもたらすが、他の3つのアイソフォームの過剰発現では大きな異常は見られないことを発見した。更に、キナーゼ活性を失う遺伝子変異を導入したDCLK1-Lの過剰発現では層移動に大きな影響が見られないことから、DCLK1-L過剰発現の効果はキナーゼ活性に依存することを示した。最後に、DCLK1-Lアイソフォームを培養下の大脳皮質ニューロンに過剰発現させたところ、樹状

突起の形態形成に異常をもたらし、更に、その形態異常の誘導能はキナーゼ活性に依存することを示した。以上の結果から、DCLK1-Lの過剰発現は、何らかの標的分子をリン酸化することにより樹状突起形成に異常をもたらし、in vivoレベルでは神経細胞の移動に異常をもたらす可能性が示唆された。

考察の章では、本研究において新たに見出されたDCLK1アイソフォームの発現動態と大脳皮質内局在のデータセットに基づいて、各アイソフォーム独自の機能、および病態との関連について議論している。

これらの論文の各章で示された研究成果は、これまで散発的に行われていたDCLK1アイソフォームの発現・機能研究を、同一のプラットフォームにおいて同時に行い、はじめて統合的なデータセットを示した論文である。したがって、論文提出者の研究成果は博士（理学）の学位を受けるにふさわしいと判定した。

以上の理由から、博士（理学）の学位を授与できると認める。