

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 穂香

本研究は、発達期小脳でみられる登上線維－プルキンエ細胞シナプスの刈り込みにおける Myocyte Enhancer Factor 2 (MEF2) 遺伝子の役割を明らかにすることを目的とした。まず、マウス小脳のプルキンエ細胞において *Mef2a*、*Mef2d* を miRNA によってノックダウンし (MEF2A-KD, MEF2D-KD)、登上線維－プルキンエ細胞シナプスの刈り込みに必要かどうかを調べた。その結果をもとに、プルキンエ細胞特異的に *Mef2d* を欠損するノックアウトマウス (MEF2D-cKO) を作製し、プルキンエ細胞で発現する *Mef2d* のシナプス刈り込みにおける役割を調べた。これらの解析により、下記の結果を得た。

1. レンチウイルスを介した miRNA の導入によって生後直後のマウスのプルキンエ細胞において *Mef2a* と *Mef2d* をノックダウンし (MEF2A-KD, MEF2D-KD)、生後 20 日齢以降の急性小脳スライスで個々のプルキンエ細胞に投射する登上線維の本数を電気生理学的に調べた。その結果、MEF2D-KD 群ではプルキンエ細胞に投射する登上線維の本数が増加しており、MEF2D が登上線維－プルキンエ細胞シナプス刈り込みに必要であることが示唆された。
2. MEF2D をプルキンエ細胞で遺伝子欠失させたマウス (MEF2D-cKO マウス) を作製し、登上線維－プルキンエ細胞シナプスの刈り込みへの影響を電気生理学的に調べた。MEF2D-cKO マウスでは、生後 16 日齢以降でプルキンエ細胞に投射する登上線維の本数が増加しており、MEF2D の発現が登上線維－プルキンエ細胞シナプスの刈り込みの後期過程において不可欠であることが示された。
3. MEF2D-cKO マウスの電気生理学的な解析の結果、複数の登上線維をもつプルキンエ細胞でみられる弱い登上線維を介した EPSC の振幅は、対照マウスと比較して生後 10 から 15 日齢の間で大きく、MEF2D が余剰な登上線維シナプスを弱めていく過程に関わることが示唆された。
4. MEF2D-cKO マウスにおいて、登上線維終末を VGluT2、プルキンエ細胞を Car8 で免疫染色し、登上線維終末の細胞体から遠位樹状突起への移行を形態学的に調べた。対照マウスと比較してプルキンエ細胞の細胞体から遠位樹状突起への登上線維の移行が障害され、余剰な登上線維終末が細胞体に残存しており、MEF2D は登上線維終末の移行にも必

須な分子であることが示唆された。

5. **MEF2D-cKO** マウスにおいてプルキンエ細胞特異的に **P/Q** 型カルシウムチャネルをノックダウンした効果を調べた。その結果、**MEF2D-cKO** マウスでみられた登上線維—プルキンエ細胞シナプスの刈り込みの障害は、**P/Q** 型カルシウムチャネルをノックダウンした際の障害に包含された。このことから、**MEF2D** が **P/Q** 型カルシウムチャネルと同じ経路でシナプス刈り込みに関与することが示唆された。

6. 生後 16 日齢の **MEF2D-cKO** マウスと対照マウスの小脳組織を用いて **RNA-seq** を行い、遺伝子発現変化を調べた。その結果、**MEF2D-cKO** マウスでは、神経活動と中枢神経系の発達に関連する遺伝子の発現レベルが対照マウスとは異なり、登上線維のシナプス刈り込みの障害が **MEF2D** 標的遺伝子の発現量の不全によって引き起こされる可能性があることが示された。

以上、本論文は、マウスの発達期小脳の登上線維—プルキンエ細胞シナプスの刈り込みにおける **MEF2D** 転写因子の関与を明らかにし、シナプス刈り込みのメカニズムの解明に重要な貢献をすることから、学位（医学）の授与に値するものと考えられる。よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。