

## 【課程-2】

### 審査の結果の要旨

氏名 周 聖浦

本研究の目的はコレステロール代謝を制御する転写因子 SREBP-2 の細胞内輸送と活性化に関わる SCAP のアストロサイトにおける機能を明らかにすることである。ヒト GFAP プロモーターに CreERT2 遺伝子を接続したアストロサイト特異的 inducible Cre マウスと Scap flox マウスを交配し、成長後タモキシフェン投与によりアストロサイト特異的に SCAP 欠損が誘導される hGFAP-CreERT2(Tg):: Scap flox マウスを作製した。本トランスジェニックマウスを利用し、脳初代グリア培養及びアストロサイト特異的に immunopanning 培養法を試み、SCAP 欠損誘導により下流遺伝子及び細胞形態の変化を調べた。また、本モデルマウスにおける成長障害の有無、耐糖能、インスリン抵抗性の評価、および記憶、不安・恐怖などに関連する行動実験を行い、探索的に脳機能の表現型を調べ、下記の結果を得た。

1. CreERT2-LoxP システムを用いたアストロサイト特異的 SCAP 欠損誘導マウスを作製した結果、8 週齢マウスにタモキシフェン連続投与後、12 週齢時点で脳組織において Scap 遺伝子の組み換えを認め、それが 45 週齢時点でも持続することを確認した。本トランスジェニックマウスは対照群 (Scap flox マウス) と比較し、成長障害を認めず、脳の粗大な解剖学的変化を認めなかった。
2. hGFAP-CreERT2:: Scap flox マウスを用い、古典的アストログリア培養法にて、タモキシフェン刺激を行ったところ、RNA 及び蛋白レベルにて SCAP 遺伝子の発現が低下し、下流ステロール合成遺伝子群 (Srebf2, Hmgcr, Sqle) の RNA 発現も低下した。
3. 生理的に分化したアストロサイトを in vitro で観察するため、無血清培地を用いた immunopanning 培養法を試みたところ、従来法より細胞選択性が高く、GFAP 陽性率も著しく上昇した。
4. 古典的初代培養で SCAP 欠損を誘導した場合、細胞形態に明らかな変化は認められなかったが、immunopanning 法においては、細胞の顕著な形態変化及び細胞数の減少が認められた。また、免疫染色にて GFAP の発現量が減少し、生存細胞に GFAP 発現の低下が認められた。したがって、SCAP は分化したアストロサイトの正常な増殖と生存維持に関与する可能性が高いと考えられた。
5. アストロサイト特異的 SCAP 欠損誘導マウス (GFAP-SCAP(-)) において、行動実験の結果にて恐怖及び不安様行動が減少し、衝動的な行動が増加し、ストレスに対する反応の異常が認められた。
6. GFAP-SCAP(-)マウスにおいて、認知機能、短期学習能力の有意な障害は認めず、長期・遠

隔記憶の障害が示唆された。

7. GFAP-SCAP(-)マウスはコントロール群と比較し、耐糖能、協調・運動機能、短期記憶などの評価では有意差を認めず、ストレス関連ホルモンの日内変動の変化を認めなかった。

本論文は、脳アストロサイトで SCAP:SREBP 系を介した脂質制御の障害により引き起こされる機能異常について検討している。その結果、無血清培地における SCAP 欠損はアストロサイトの成長障害及び生存に関与することが示唆された。また、糖尿病の脳で観察される SCAP 減少を、個体成体のアストロサイト特異的に誘導することで、認知機能の障害や、恐怖・不安に関与する行動変化が惹起されることを明らかにした。本研究は脳アストロサイトにおける脂質代謝恒常性の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。