

# 論文審査の結果の要旨

氏名 橋詰 晃一

本論文は6章からなり、第1章では研究の背景と目的が、第2章では転写因子 POU3F2 の単一アミノ酸リピートのアストロサイト産生への寄与が、第3章では転写因子 POU3F2 の単一アミノ酸リピートの認識・記憶機能への寄与が、示されている。第4章では転写因子 POU3F2 の単一アミノ酸リピートが脳の進化に果たした役割に関して述べられ、第5章（謝辞）ならびに第6章（文献）へと続く。

多くの転写因子で一種類のアミノ酸が連続して並びリピート配列（単一アミノ酸リピート）が存在し、転写活性やタンパク質間相互作用に影響を及ぼすことが知られている。中枢神経系で発現する転写因子 POU3F2 は神経幹細胞の分化や大脳皮質層構造の形成に関与する。哺乳類の POU3F2 には3種類の単一アミノ酸リピートが存在するが、哺乳類以外の脊椎動物の POU3F2 にはこれらリピートは存在しないか、あるいは短いリピートのみが存在する。よって、これらリピートは哺乳類進化の過程で特異的に挿入されたと考えられる。本論文では、単一アミノ酸リピートの機能ならびに表現型レベルでの役割を明らかにすることを目的に、POU3F2 哺乳類特異的な単一アミノ酸リピートを全て欠失させたノックインマウス（以下、リピート欠失型マウス）を用い、脳の機能と発生に及ぼす影響を調べている。

POU3F2 の機能がリピートの有無で変化するか調べるため、野生型とリピート欠失型 POU3F2 それぞれを発現ベクターと融合させ、ルシフェラーゼ・アッセイにより転写活性を測定した。リピート欠失型は野生型よりも高い活性を示し、単一アミノ酸リピートが POU3F2 の転写活性化能に対して抑制的に働くことが示された。次に、リピート欠失型マウスの大脳皮質ではグリア細胞が約20%減少していること、生後の大脳皮質での S100 $\beta$ +アストロサイトならびに胎生期の皮質板での GLAST+アストロサイト前駆細胞がそれぞれ20%と40%、リピート欠失型マウスで減少していることを示した。また、アストロサイ

ト産生期（E17.5）においてリピート欠失型マウスでは TBR2+が35%ほど増加しており、リピート欠失型マウスでは神経幹・前駆細胞の分化に異常が生じている可能性が示唆された。そこで、E16.5 増殖細胞の BrdU 標識 48 時間後の BrdU+GLAST+ と BrdU+NeuN+を計測し、アストロサイト産生期のリピート欠失型マウスでは、神経幹・前駆細胞のアストロサイトへの分化が抑制され、ニューロンへの分化が促進されていることを示した。

POU3F2 は認知機能に関連することが知られている。認識・記憶機能を評価する object recognition test と object location test を、野生型とリピート欠失型マウスで比較した。リピート欠失型マウスは両テストで低い recognition index を示し、認識・記憶における欠損を示した。大脳皮質と海馬の組織学的解析では遺伝子型間の違いは観察されなかった。そこで、成体海馬におけるニューロン新生を調べたところ、リピート欠失型マウスでは新生ニューロン数が減少していた。神経突起形態の解析からリピート欠失型マウスでは海馬における神経幹細胞の分化異常が示されたが、成体海馬より単離した神経前駆細胞を *in vitro* で分化させたところ、遺伝子型間で違いはみられなかった。以上から、POU3F2 のリピートによる神経前駆細胞の分化は外因性の影響を受けていると考えられた。

以上、本論文では、転写因子 POU3F2 の哺乳類特異的な単一アミノ酸リピートに着目し、単一アミノ酸リピートは、①POU3F2 の転写活性を制御する、②神経幹・前駆細胞の分化に影響を及ぼし、アストロサイト産生に寄与する、③生体において認識・記憶機能に寄与すること、を明らかにした。アストロサイトは成体海馬におけるニューロン新生の分化・成熟に必要であることから、リピート欠失型マウスでみられた認識・記憶機能の欠損と成体海馬での新生ニューロンの分化阻害はアストロサイトの減少に由来すると考えられる。アストロサイトは哺乳類で著しく増加した細胞である。従って、脊椎動物進化の過程で獲得された POU3F2 の哺乳類特異的な単一アミノ酸リピートは、POU3F2 の活性に影響を及ぼすことで神経幹・前駆細胞の分化を変化させ、哺乳類のアストロサイトの増加に寄与した可能性を示した。上記知見は脳の進化を解明する上で大きなインパクトを与えるものである。なお、本論文は植田信太郎、山中雅史との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、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。