

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 道家 未央

性ステロイドホルモンの一種であるエストロゲンは、周生期の脳の性分化や雌性動物の性成熟に関わる一方で、神経保護作用を併せ持つ。例えば、外傷性脳障害時に過剰な炎症を抑制する作用や脳梗塞部位を減少させる作用を持つ。また、リポ多糖（LPS）を用いた感染モデルでは神経炎症を抑制すること、成体の脳における神経新生を促進することが知られている。一方、当研究室ではエストロゲンが持つ脳の性分化誘導作用をプログラニューリン（PGRN）が仲介することを見出した。PGRN はその産生低下が神経変性疾患の一つである前頭側頭葉変性症を引き起こすなど、神経保護作用を持つことが報告されている。本研究においては PGRN がエストロゲンの神経保護作用にも関与していると仮説を立て、エストロゲンの神経保護作用における PGRN の役割を解明することを目的とした。

第 1 章では、エストロゲンの神経新生促進作用および抗炎症作用に着目し、この作用に PGRN が関与するかを検討した。まず、成体雌の野生型（WT）マウスおよび PGRN 欠損（KO）マウスに卵巣除去手術を施し、約 1 週間後にエストロゲン処置をした。エストロゲン処置後 4 時間の条件で、海馬歯状回における細胞増殖マーカー BrdU の陽性細胞数を遺伝子型間で比較した。その結果、WT マウスでのみエストロゲンによる BrdU 陽性細胞数の増加がみられ、エストロゲンの神経新生促進作用への PGRN の関与が示唆された。次に、WT マウスおよび KO マウスの卵巣を除去して 2 週間後にエストロゲン処置をし、LPS を投与して 24 時間後に海馬と視床下部を採材し、サイトカインや成長因子の遺伝子発現量を RT-qPCR で評価した。その結果、LPS 投与により抗炎症性サイトカインの一種である TGF- β 1 のエストロゲン依存的な上昇が WT マウスでのみ認められた。これらの検討から、エストロゲンの神経保護作用の少なくとも一部は PGRN により仲介されていると考えられた。

第 2 章では、PGRN がエストロゲン作用を仲介する機序を追究するため、 α 型エスト

ロゲン受容体 (ER α) に焦点を当て、その発現を遺伝子型間で評価した。まず、WT マウスおよび KO マウスを用い、神経細胞、ミクログリアおよびアストロサイトにおける ER α の発現を免疫組織学的に評価した。その結果、神経細胞およびミクログリアでの ER α の発現には遺伝子型間で差はみられなかったが、アストロサイトにおける ER α は WT でのみ発現していた。次に、新生仔よりアストロサイトを分離、培養したところ、KO マウス由来のものにも ER α の発現みられた。In vitro と in vivo の環境の違いを考慮し、KO マウス由来のミクログリアとアストロサイトを共培養してアストロサイトにおける ER α の発現を解析した結果、この条件下でも KO マウス由来のアストロサイトにおいて ER α が発現していた。これらのことから、KO マウス由来のアストロサイトも ER α の発現能を持っているが、in vivo の環境下では PGRN の欠損より発現が抑制されていることが示唆された。

第 3 章では、エストロゲン投与時のアストロサイトにおける PGRN の役割をさらに追求するため、アストロサイトにおけるエストロゲン応答性を DNA チップにより網羅的に解析し、遺伝子型間で評価した。成体雌の WT マウスおよび KO マウスに卵巣除去手術を施し、その 2 週間後にエストロゲン処置をした。その 72 時間後にアストロサイトを分離し、RNA を抽出した。DNA チップにより網羅的に遺伝子発現を評価し、発現に変動があった遺伝子についてパスウェイ解析を行った。その結果、WT でのみエストロゲン応答性が増加していたものは該当なしであったが、減少していたものとしては 9 つのパスウェイが該当し、その中にサイトカイン-サイトカイン受容体相互作用が含まれていたことから、PGRN はアストロサイトの過剰な炎症反応を抑えることでエストロゲンの神経保護作用の一部を担っていることが示唆された。

本研究により、PGRN がアストロサイト特異的な ER α の発現に関わっていることが初めて示され、エストロゲンの神経保護作用における PGRN の新たな作用点が明らかになった。また、本研究では通常 PGRN を発現しないアストロサイトにおいても PGRN がその性質を制御していることを示した。今後、エストロゲンと PGRN の関係および PGRN とアストロサイトの関係に着目して制御機構を解析していくことで、エストロゲンおよび PGRN が関与する神経疾患に対する新たな治療法の提案が期待できるとともに、女性の Quality of Life の向上へと貢献できると考えられる。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。