

論文審査の結果の要旨

氏名 五十嵐 惇

本論文は9章からなり、第1章では序として研究の背景と目的が、第2章では実験材料と研究手法が、第3章では両生類型ノックインマウスの作出、両生類型ノックインマウスの行動ならびに様々な分子指標に関する野生型マウスとの比較解析結果が、第4章では第3章での結果から両生類型ノックインマウスの特徴ならびに進化学的視点からの考察が述べられている。以下、結語（第5章）、謝辞（第6章）、文献（第7章）、図表（第8章）、補遺（第9章）が述べられている。

哺乳類（哺乳綱）ゲノムの特徴の一つとして同一のアミノ酸残基が中断なく直列状に並んだ単一アミノ酸反復配列が知られている。そして、単一アミノ酸反復配列は転写因子など遺伝子発現調節に係わる遺伝子に多く存在すること、これらの有無によって下流遺伝子の発現レベルに変動をもたらされること等が知られている。本論文では主に中枢神経系で発現する転写因子である *Brn-1/Pou3f3* に着目し、単一アミノ酸反復配列の分子進化学的意味を探っている。哺乳類の *Brn-1/Pou3f3* においては単一アミノ酸反復配列が8ヶ所存在するのに対して、両生類・魚類では2つの単一アミノ酸反復配列しか存在しない。そこで、マウスの遺伝子を両生類であるネッタイツメガエル (*Xenopus tropicalis*) の遺伝子に完全に置き換えた両生類型ノックインマウスを作出し、どのような変異が生じるかを解析している。なお、*Brn-1/Pou3f3* 転写因子の遺伝子はイントロンレスであり、DNA結合部位であるPOUドメインのアミノ酸配列はマウスとネッタイツメガエルの間で100%一致している。両生類型ノックインマウス・ホモ個体ならびにヘテロ個体とも、外見や体重、脳の基本構造、変異型遺伝子の脳内発現部位ならびに発現レベルに関して、野生型マウスとの間に差異は見られなかった。また、*Brn-1/Pou3f3* 遺伝子のパラログである *Brn-2/Pou3f2* 遺伝子の両生類型ノックインマウスで観察されたメスの仔育て能力の著しい低下、その結果としての仔が離乳時期まで生存している割合の低

下は観察されなかった。しかし、野生型マウスよりも有意に強いプレパルス驚愕反応抑制が両生類型ノックインマウスで観察され、統合失調症に似た様相が見られた。また、尾懸垂試験ならびに強制水泳試験での無動時間が両生類型ノックインマウスは野生型マウスよりも有意に長く、抑鬱的な傾向を示した。

そこで次に、拘束を含む種々のストレスを慢性的にマウスに負荷し、ストレスに関する様々な分子指標の測定ならびに網羅的トランスクリプトーム解析をおこなっている。慢性ストレス負荷は脳下垂体から放出される副腎皮質刺激ホルモンの前駆体ポリペプチドの発現を上昇させるが、両生類型ノックインマウスは野生型マウスよりも上昇の程度が有意に低かった。また、慢性ストレス負荷は様々な種類のグルタミン酸受容体や GABA 受容体の発現低下を引き起こすが、両生類型ノックインマウスでは発現低下を引き起こす受容体は限られていた。

拘束ストレスは様々な抗酸化酵素の発現上昇を引き起こすことが知られている。本論文で負荷したストレスにより野生型マウスでは既知の 111 個の抗酸化遺伝子のうち 22 遺伝子の発現上昇を観察したが、両生類型ノックインマウスでは発現が上昇していたのは 4 つの遺伝子だけであった。両生類型ノックインマウスでは酸化ストレスマーカーである尿中 8-OHdG 濃度が上昇傾向を示しており、迅速な酸化ストレス応答が発揮されていないことが示唆された。また、野生型マウスでは慢性ストレスにより骨密度や血中アルカリフォスファターゼ活性が低下するが、両生類型ノックインマウスでは両者とも変化がなかった。

以上、本論文では、マウスの転写因子 *Brn-1/Pou3f3* を両生類型に置換させることによって、(1) 統合失調症様反応や抑鬱的傾向が生じること、(2) ストレスに対する応答が低下すること、を明らかにした。本論文で示された新知見は哺乳動物進化のゲノム基盤を考える上で大きなインパクトを与えるものであり、また、ストレス応答と哺乳類進化の係わりの解明にも寄与するものである。なお、本論文は植田信太郎、那須信、矢田紗織、須藤伝悦、秋山佳代、伊藤円、吉田進昭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。