

# 論文審査の結果の要旨

氏名 川上 絵理

本論文は、初期発生および神経発生におけるヒストン脱メチル化酵素 Fbx111 の生理的機能について述べられている。初期発生では Fbx111 が細胞周期因子の発現調節を介して細胞増殖を制御し個体発生に必須であることを明らかとし、神経発生においては Fbx111 が胎生期神経幹細胞の未分化維持や生後の神経細胞の生存維持に必須であることを示した。

発生過程における時期特異的な神経幹細胞の分化および増殖はエピジェネティック機構により厳密にコントロールされることが知られている。当研究室では、ヒストン H3K36 の脱メチル化酵素である Fbx110 が ES 細胞や神経幹細胞に高発現することに着目し、Fbx110 欠損マウスを作製した。Fbx110 欠損マウスでは細胞周期因子の発現上昇が確認され、神経管閉鎖不全に起因した外脳症を発症したことから、Fbx110 が神経発生過程における細胞増殖および形態形成に重要であることを明らかとした (Fukuda et al., 2011)。一方で、Fbx111 は Fbx110 のパラログ遺伝子であり、H3K36 に対するヒストン脱メチル化酵素活性を共通に有する。Fbx111 は Fbx110 との機能相関の可能性が高いものの、個体での生理的機能および神経発生過程での分化制御における役割についての報告は未だない。そこで本研究では、Fbx111 の遺伝子改変マウス (Fbx111 LacZ レポーターマウス、全身性 Fbx111 欠損マウス、神経特異的 Fbx111 欠損マウス) を作製し、その生理的機能を解析することとした。

Fbx111<sup>lacZ</sup> レポーターマウスによる発現解析の結果、Fbx111 は胎生期 9 日目 (E9) から E16 にかけて全身に広く発現しており、神経分化時期 (E14) 以降では大脳皮質に特に強い局在が観察された。この発現パターンから、Fbx111 が神経発生過程において機能する可能性が強く示唆された。

Fbx111 欠損マウスは E8 以降から成長遅延を呈し、E12 では胎生致死を示した。E10 の Fbx111 欠損マウスにおいてアポトーシスの亢進、および増殖能の低下が観察され、さらに、細胞周期停止因子 p21<sup>Cip1</sup> の発現が有意に上昇していた。以上、Fbx111 は初期発生に必須であり、p21<sup>Cip1</sup> をはじめとする細胞周期関連因子の発現調節を介して細胞増殖を制御していることを明らかにした (Kawakami et al., 2014)。

次に、神経発生における機能を詳細に解析するため神経特異的 Fbx111 欠損 (Fbx111 cKO) マウスを作製した。Fbx111 cKO マウスの大脳皮質において胎生期では神経幹細胞および神経細胞の動態は正常だったのに対し、生後では神経細胞が有意に減少していた。また、出生直後からアポトーシスの亢進や、アストロサイトおよびミクログリアの異所的な増殖が観察さ

れた。これらの結果から、Fbx111 の欠損により生後脳の神経細胞死が誘発され、細胞死にตอบสนองしてアストロサイトやミクログリアが過剰に集積することを見出した。

次に胎生期神経幹細胞の増殖および分化能に対する Fbx111 の役割を調べるため、Fbx111 cKO マウス大脳皮質由来神経幹細胞を採取した。Fbx111 欠損神経幹細胞は増殖能の低下および細胞死の亢進を引き起こしており、さらに、早期神経分化が認められた。以上の結果から Fbx111 が胎生期神経幹細胞の増殖や未分化維持に寄与することが示された。

Fbx111 欠損神経幹細胞の細胞死の原因として胎生期と生後の酸素環境の違いに着目し、胎仔の生理的酸素条件下(5%酸素濃度)で神経幹細胞を培養したところ、Fbx111 欠損神経幹細胞の増殖・生存が回復したことから、通常酸素環境(20%酸素濃度)において Fbx111 は神経幹細胞の生存維持に働いていることが明らかになった。さらに、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、神経幹細胞における Fbx111 の標的遺伝子を抽出した結果、酸化ストレス、神経分化、アポトーシスに関する標的遺伝子が複数同定された。

以上から、胎生期の神経幹細胞では Fbx111 の欠損により遺伝子発現異常が蓄積し、出生に伴って生じた酸化ストレスが要因となり、生後の大脳皮質で神経変性様の表現型が露呈したことが考えられた。すなわち、生理的環境下において Fbx111 は神経幹細胞の維持や分化能および神経細胞の生存に必須であることを明らかとした。

なお、本論文第 3 章第 3 節第 5 項のマイクロアレイ解析は大分大学医学部分子病理学講座守山正胤教授、塚本善之助教との共同研究であるが、論文提出者が主体となって立案、解析および検証を行ったものであるため、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(生命科学)の学位を授与できると認める。

以上 1991 字