

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 奥田 耕助

*Cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5)* 遺伝子の突然変異は難治性てんかんを伴う神経発達障害や非典型 Rett 症候群の原因となる。東京大学大学院医学系研究科発達医学教室では *Cdk15* ノックアウトマウスを独自に作製している。本研究は、*CDKL5* の分子機能およびその遺伝子変異による病態機序を明らかにするため、その *Cdk15* ノックアウトマウスを用いて、形態学的・行動学的・生化学的手法による表現型解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 海馬 CA1 領域の錐体細胞に対して Sholl 解析を行った結果、*Cdk15* ノックアウトマウスの基底樹状突起・先端樹状突起ともに分枝と長さの減少が確認され、*Cdk15* ノックアウトマウスの樹状突起伸長の異常が示された。
2. 海馬 CA1 領域の錐体細胞の先端樹状突起のスパインの形態を観察したところ、*Cdk15* ノックアウトマウスでスパインの密度と長さの増加が確認された。さらに、stubby 型スパインの減少と thin 型スパインの増加が確認され、*Cdk15* ノックアウトマウスのスパイン形態の異常が示された。
3. 網羅的行動テストバッテリーを用いて、*Cdk15* ノックアウトマウスの行動を網羅的に解析し、*Cdk15* ノックアウトマウスにおける様々な行動異常が示されている。
  - 3-1. 明暗箱試験・オープンフィールド試験・高架式十字迷路試験によって、*Cdk15* ノックアウトマウスの著しい不安亢進が確認された。また、強制水泳試験・尾懸垂試験によって、*Cdk15* ノックアウトマウスの情動異常が示された。
  - 3-2. 3 種類のソーシャルインタラクション試験によって、*Cdk15* ノックアウトマウスにおける社会性行動の異常が示された。
  - 3-3. 複数の試験から *Cdk15* ノックアウトマウスの記憶/学習能力の異常が示された。恐怖条件付け試験・受動的回避行動試験では、*Cdk15* ノックアウトマウスにおける文脈記憶の障害が確認された。Barnes 迷路試験では、*Cdk15* ノックアウトマウスにおける長期空間参照記憶の障害が確認された。T 字迷路試験では、*Cdk15* ノックアウトマウスにおけるワーキングメモリーの障害が確認された。
4. カイニン酸・PTZ・NMDA を投与して、*Cdk15* ノックアウトマウスのけいれん感受性を観察した結果、*Cdk15* ノックアウトマウスは NMDA に対してのみ感受性が増加しており、NMDA の投与により激しいけいれんを起こすことが確認された。
5. ウェスタンブロッティングによって NMDA 受容体関連蛋白の定量を行ったところ、*Cdk15* ノックアウトマウスの海馬・大脳ともに、後シナプス分画における NMDA 受容体のサブユニットの 1 つである GluN2B の蛋白量増加が確認された。

さらに、後シナプス分画における GluN2B の足場蛋白である SAP102 の蛋白量増加も確認された。

以上、本論文は *Cdkl5* ノックアウトマウスにおける様々な行動異常、NMDA 感受性の増加、後シナプス分画における NMDA 受容体サブユニット GluN2B の蛋白量増加を明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、*CDKL5* 遺伝子の変異による難治性てんかんを伴う神経発達障害の病態機序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。