

京都大学	博士（医学）	氏名	松崎 公 信
論文題目	Hes1 expression in mature neurons in the adult mouse brain is required for normal behaviors （成体マウス脳の成熟神経細胞における Hes1 の発現は正常行動に必要なである）		
（論文内容の要旨） <p>Notch シグナル伝達系は神経幹細胞・前駆細胞の維持及び増殖を制御しており、発達中の神経系においてグリア細胞と神経細胞の分化の制御にもかかわっている。近年の研究では Notch シグナル伝達系が学習・記憶過程における神経活動や、統合失調症や双極性障害などの精神疾患にも関与していることが示唆されている。実際、Notch 蛋白質の活性体である Notch 細胞内領域(NICD)は、大脳皮質や海馬など脳の多くの領域において発現しており、生後の海馬神経細胞において Notch を不活化すると記憶障害を来すことが知られている。また、Notch シグナル伝達系の異常は統合失調症や双極性障害の危険因子とかかわっていることも示されている。しかしながら Notch シグナル伝達系がそのような神経活動を制御する機序は明らかにされていない。</p> <p>Notch は細胞膜貫通型蛋白質であり、リガンドにより活性化されると細胞膜貫通領域で切断されることにより NICD が遊離する。その後 NICD は核へ移動し、DNA 結合因子である Rbpj 並びに転写共活性化因子（transcriptional co-activator）である Mastermind-like と複合体を形成する。この複合体が bHLH 転写抑制因子である Hes1 や Hes5 などの下流遺伝子の発現を活性化する。Notch シグナル伝達系の effector である Hes1 は、発達中の神経系において神経幹細胞・前駆細胞の維持・増殖やグリア細胞・神経細胞への分化を制御している。以前の研究では Hes1 は培養神経細胞においても発現しており神経活動を制御していることが示されている。Hes1 は神経可塑性に必須の AMPA 受容体である GluR1 の発現を抑制し、培養皮質神経細胞において GluR1 依存性の Ca 流入を抑制する。さらに Hes1 はβアミロイドの影響に拮抗し培養海馬神経細胞の生存に寄与する。これらの結果は Hes1 が培養系において神経活動を制御していることの査証となっているが、生体脳における Hes1 の機能は依然明らかにされていない。</p> <p>本論文ではまず Hes1 が成熟マウス脳において興奮性及び抑制性神経細胞において発現していることを免疫組織学的に解析し、興奮性神経細胞の 3-15% 及び抑制性神経細胞の 30% で発現していることを示した。Hes1 は負のフィードバックのため発現量が少なく検出が難しいが、フィードバックをなくすことでより強い発現を認めた。また Hes1 の発現は視覚刺激及び経頭蓋電気刺激により誘発した神経細胞の活動によって誘導された。また、Cre/LoxP 遺伝子組換え系を利用することにより、興奮性神経細胞特異的及び抑制性神経細胞特異的に Hes1 をノックアウトしたマウスを作成した。このマウスを組織学的・行動学的に解析することで以下のことが明らかになった。いずれのノックアウトマウスにおいても健康状態や筋力については野生型との違いが見られなかったが、興奮性神経細胞特異的 Hes1 ノックアウトマウス(Math2-Cre/Hes1 cKO)においては恐怖条件づけ試験や探索行動・不安行動を調べる open field test において恐怖・不安行動が遷延する異常が見られ、それに伴い扁桃体の神経興奮性が増大していること、また、抑制性神経細胞特異的 Hes1 ノックアウトマウス(Gad2-Cre/Hes1 cKO)においては社会的認知機能を調べる Crawley's social interaction test や空間記憶を調べる Barnes maze test において社会行動の亢進及び固執傾向がみられることである。これらの結果により Hes1 が興奮性及び抑制性神経細胞双方において正常な行動を行う上で機能的に重要であることが示された。また、本研究で作出したノックアウトマウスは種々の神経疾患を研究していく上で有用と考えられる。</p>			

（論文審査の結果の要旨）

Notch シグナル系が学習・記憶過程における神経活動や、統合失調症および双極性障害などの精神疾患にも関与していることが示唆されているが、Notch シグナル系がそのような神経活動を制御する機序は不明であった。

本申請者は、Notch シグナル系の下流で働く転写抑制因子 Hes1 の発現を成熟マウス脳で解析したところ、興奮性神経細胞や抑制性神経細胞において発現していること、その発現は視覚刺激や経頭蓋電気刺激で誘発した神経細胞の活動により誘導されることを明らかにした。次に、神経細胞における Hes1 の機能を調べるために Cre/LoxP 遺伝子組換え系を使って、興奮性神経細胞特異的および抑制性神経細胞特異的な Hes1 ノックアウトマウスを作成した。興奮性神経細胞特異的 Hes1 ノックアウトマウスでは、恐怖・不安様行動が遷延し、それに伴い扁桃体神経細胞の興奮性が増大していた。一方、抑制性神経細胞特異的 Hes1 ノックアウトマウスでは、社会行動の亢進および固執傾向がみられた。これらの結果から、正常な行動を行う上で興奮性神経細胞や抑制性神経細胞において Hes1 が機能的に重要であることが示された。

以上の研究は、Hes1 による神経活動の制御機構及び行動制御への寄与の解明に貢献し、神経科学研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和2年1月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。