

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	助川 桃枝
論文題目	Epitranscriptomic mediators of environmental impacts on mouse behaviours		
(論文内容の要旨)			
<p>動物は、常に変化し続ける予測不可能な環境の中で生き残るために、自身の行動を素早く調節して適応する必要がある。このような行動上の適応には、個体の遺伝的構成と環境要因との動的な相互作用が必要である。この相互作用の結果、動物は特定の行動を短期的あるいは長期的に獲得する。このような特定の行動の獲得を制御する脳領域については、昨今の光遺伝学研究の発展により解明されつつあるが、①どのような環境変化が行動の獲得に影響を与えるのか、また、②それを制御する分子的基盤がどのように制御されているのかについては不明な点が多い。</p> <p>本論文で申請者はまず、環境要因がマウスの行動に与える影響を解析するために、「豊かな飼育環境」「通常の飼育環境」「貧しい飼育環境」を設定し、それらの環境の中で離乳後の動物を9週間にわたって飼育した。その後22種類の行動テストバッテリーを行い、飼育条件によって影響を受ける行動を解析した。その結果、「通常の飼育環境」と比べ、「豊かな飼育環境」においても、「貧しい飼育環境」においても、顕著な行動変化が見られることを見出した。さらに9週間「豊かな飼育環境」で飼育したマウスを「通常の飼育環境」に戻した際、攻撃やストレス様行動を引き起こすなど、環境変化がマウスにとってストレスャーになり得ると結論付けた。</p> <p>次に申請者は、マウスの行動を制御する分子的基盤の解明に取り組んだ。動的なRNA修飾シグナルであるエピトランスクリプトームの制御が、マウス行動獲得過程で変化するという仮説を立て、エピトランスクリプトーム制御関連遺伝子改変マウスが周囲の環境に対して示す行動を検討した。具体的には、野生型マウスの行動とRNA修飾N6-メチルアデノシンの結合タンパク質であるYTHDF3のコンディショナルノックアウトマウスの行動を比較することにより、環境と遺伝子型の相互作用の可能性を探索した。その結果、学習記憶や運動機能において大きな差は見られなかったが、ストレス対処行動において、遺伝子型と飼育環境の間に有意な相互作用があることが確認された。</p> <p>さらに、申請者は、環境探索行動におけるYTHDF3の生理的意義を明らかにするために集団飼育環境下行動実験システムであるインテリケージを用いてYTHDF3の行動上の役割を探索した。インテリケージは個体に識別チップを埋め込むことで、長期間にわたり、多彩の行動タスクを人間の介入なしの条件で記録できるという特徴を有する。野生型マウスとYTHDF3のコンディショナルノックアウトマウスを比較したところ、活動レベルの変化、偏った空間選好、意欲低下様行動、突発的な強い刺激に対する行動の変化という行動特徴があることが明らかとなった。この結果は、YTHDF3はストレス対処行動だけでなく、文脈依存的に個体の行動を調節するという新たな役割をもつことを示唆している。またマウス行動解析においては通常雄を用いるが、従来用いることがほとんどない雌マウスを用いることで、探索行動パターンに性差があることも示された。</p> <p>最後に、申請者は、同じくN6-メチルアデノシンの結合タンパク質であるYTHDF1の役割と、YTHDF3の役割を比較した。YTHDF3とは対照的に、YTHDF1のコンディショナルノックアウトマウスでは、行動テストバッテリーにおいて統計的に有意な行動の違いは検出されなかった。すなわち、YTHDF1とYTHDF3は共通の標的RNAを持ち、分子機能も似ている可能性が高いにもかかわらず、結合タンパク質の間で機能の行動上の帰結が乖離しており、独立した非交換的な役割を持つ可能性が示唆された。以上より本論文は、環境要因が行動変化に与える影響を解明し、エピトランスクリプトーム制御が環境と遺伝の相互作用を媒介する制御機能を果たすことを明らかにした。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

RNA 化学修飾を介した生理機能を研究するエピトランスクリプトミクス分野は次世代シーケンス手法の発展により近年に隆起した分野であり、その動的制御は、細胞の機能および個体発生に重要であることが明らかになった。また、エピトランスクリプトミクスの制御因子の同定により、ヒトの知的障害との関わりも見えてきている。神経機能への関与メカニズムとしては、環境要因と遺伝子発現制御を繋ぐべく、神経活動依存的な転写後制御の機能制御に注目が集まっている。その中でも、神経細胞における RNA 化学修飾の機能解読は、神経科学の重要課題である「我々はどのようにして、環境依存的に脳を発達させ、行動パターンを形成させるか」の制御原理の解明のみならず、精神疾患病態の理解へ向けた分子的知見を与えるうえでも重要な課題である。

申請者は、行動獲得における RNA 修飾の意義を調べるために、「豊かな飼育環境」「通常の飼育環境」「貧しい飼育環境」を設定し、環境要因が行動パターンに影響を与えることを明らかにした。特に、「豊かな飼育環境」で飼育したマウスを「通常の飼育環境」に戻した際、攻撃やストレス様行動を引き起こすことを見出すなど、環境変化と行動変化との相互作用に踏み込んだ点は大きく評価できる。さらに、行動とエピトランスクリプトミクスとの関係を明らかにするために、メッセンジャーRNA 上にもっとも豊富に存在する N6-メチルアデノシン(m6A)RNA 化学修飾に注目し、神経細胞において m6A に結合するタンパク質 YTHDF3 をの機能解析進めた。神経系では、YTHDF3 は主に神経細胞の細胞質にて発現し、m6A 修飾をもつ RNA の分解や翻訳促進などの分子機能が示唆されている。本研究はまず、マウスの前脳における興奮性神経細胞において YTHDF3 をノックアウトした上で、さまざまな行動スクリーニングを行った。その結果、YTHDF3 欠損が、動物の行動形成の環境依存性や、ストレス対処における反応行動に影響することを見出した。これまでの研究では、成熟した神経細胞において YTHDF3 が関わる分子経路や神経機能はほとんど解明されておらず、本研究は YTHDF3 を介した RNA 化学修飾の生理的意義の一端を明らかにした点で、大きな意義がある。またこの発見は、精神機能における RNA 化学修飾の役割の理解に重要な手掛かりを提供した点においても重要である。さらに本研究は、従来のマウス行動解析で用いることがほとんどない雌マウスを用いた実験を含んでおり、性差に関する行動パターンの相違点を考察した点でも興味深く、今後追求すべき新しい課題を提示している。研究アプローチにおいて申請者は、まだ普及していない実験者の介入なしで長期間の行動記録が可能なハイコンテンツ行動解析手法を立ち上げ、精度が高い行動解析を行った。その結果、マウスの行動時の無関心の表出という、これまで解析が難しかった表現型を捉え、ヒトの行動理解にも適用可能な行動において新規の知見を与えたものとして評価できる。本研究は、環境要因を制御する飼育環境のセットアップ、遺伝子組み換え動物の使用、従来の行動解析バッテリーテスト、プログラミング手法によるハイコンテンツ行動解析テスト、感覚、運動、および習慣行動パターン、認知機能の統計処理など、多岐にわたる手法が用いられており、申請者の研究手技の確実さと行動心理学のバックグラウンドが発揮されている。論文は論理的に明確かつ綿密に記述され、実験手法の詳細、結果とその解釈が得られた証拠と理論に基づき記載され、本研究の結果を踏まえた考察や将来の分子メカニズムの解明への展望が妥当性をもって言及されている。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、神経科学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和 5 年 1 月 19 日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日