

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	福本 景太
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
<p style="text-align: center;">Identification of genes regulating GABAergic interneuron maturation (GABA 作動性介在神経細胞の成熟を制御する遺伝子の同定)</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	今泉 和則	印
審査委員	教授	相澤 秀紀	
審査委員	教授	橋本 浩一	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>大脳皮質を構成する神経細胞は大きく二つに分類される。1つはグルタミン酸作動性の錐体神経細胞、そしてもう1つはGABA作動性の介在抑制性神経細胞である。胚発生期において、前者は大脳皮質内を脳室帯から垂直に移動し層を形成するが、後者であるGABA作動性介在神経細胞は大脳基底核原基からより長い移動を開始する。そして生後間もなく大脳皮質に到達したGABA作動性介在神経細胞は、神経突起を伸ばすことで局所的な神経ネットワークを築く。このGABA作動性介在神経細胞の移動、神経突起伸長が阻害されると、てんかんや統合失調症、自閉症などの精神疾患を発症することが知られている。以上のことから、GABA作動性介在神経細胞の正常な発達は医学的にも大変重要である。</p> <p>これまで大脳発生初期において大脳基底核原基から移動するGABA作動性介在神経細胞の分子的解析は広く行われており、Dlx1/2やNkx2-1などのいくつかの遺伝子が制御因子として良く知られている。しかし発達後期におけるGABA作動性介在神経細胞の成熟、すなわち神経突起伸長に関するシグナル分子はほとんど解析されていない。そこでまず、GABA作動性介在神経細胞特異的にGFPを発現するGAD67(glutamic acid decarboxylase)-GFPノックインマウスを用いて、FACS(fluorescence activated cell sorting)解析により、生後0日齢の大脳皮質に存在するGABA作動性介在神経細胞を分離・回収、その後マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。</p> <p>大脳皮質におけるGABA作動性介在神経細胞特異的に発現が上昇していた遺伝子</p>			

を 132 個、減少していた遺伝子を 115 個、統計的に有意に変動する遺伝子群として同定した。その中でも、GABA 作動性介在神経細胞に発現しており遺伝子発現の上昇レベルが高く、また GABA 作動性介在神経細胞における機能が未知である Dgkg(diacylglycerol kinase gamma)、Vstm2a(V-set and transmembrane domain containing 2A)、AW551984 に着目し、さらなる解析を行った。

大脳基底核から大脳皮質へ移動する GABA 作動性介在神経細胞には、パルブアルブミン陽性細胞、ソマトスタチン陽性細胞、血管作動性腸管ペプチド陽性細胞など数種類に分けられ、各々機能が異なる。これらの中で、既報の single cell RNA-seq 解析のデータを用いて、バイオインフォマティクス解析を行ったところ、Dgkg と AW551984 はソマトスタチン陽性の GABA 作動性介在神経細胞で発現しており、また Vstm2a は血管作動性腸管ペプチド陽性細胞で強く発現していた。

In vitro にて GABA 作動性介在神経細胞を培養した所、培養時間が進むにつれてこれら 3 つの遺伝子発現は上昇した。このことから上記 3 つの遺伝子は GABA 作動性介在神経細胞の成熟に沿った発現様式を有していることが示唆された。

次に、大脳基底核原基由来神経細胞の初代培養系を用いて、上記 3 つの遺伝子の過剰発現による神経突起伸長への影響を検討した。その結果、Dgkg の過剰発現が神経突起伸長を大きく促進することが明らかとなった。また逆に Dgkg をノックダウンすることで遺伝子発現を減少させた際には、神経突起伸長が抑制された。

以上の結果より、Dgkg は GABA 作動性介在神経細胞の成熟とともに上昇する発現様式を持つ遺伝子であり、Dgkg により GABA 作動性介在神経細胞の神経突起伸長が制御されることが示唆された。

本研究は、大脳皮質の抑制性神経細胞の発達、特に、発達後期にあたる時期に、大脳基底核原基から移動してきた GABA 作動性介在神経細胞が大脳皮質に到達した後、大脳皮質内に神経ネットワークを形成する際に関わる遺伝子群を FACS-array 法により網羅的に解析したものである。またその候補遺伝子群の中からリン酸化酵素である Dgkg を同定し、大脳基底核原基由来の神経細胞初代培養系を用いた解析により、GABA 作動性介在神経細胞の神経突起伸長を制御することを明らかにしたもので、大脳皮質の抑制性神経細胞の発達を理解する上で重要な知見と考えられる。よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

学力確認の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	福本 景太
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目			
<p style="text-align: center;">Identification of genes regulating GABAergic interneuron maturation (GABA 作動性介在神経細胞の成熟を制御する遺伝子の同定)</p>			
試問担当者			
主 査	教授	今泉 和則	印
審査委員	教授	相澤 秀紀	
審査委員	教授	橋本 浩一	
〔学力確認の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記 3 名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成 30 年 1 月 4 日の第 72 回広島大学研究科発表会（医学）及び平成 30 年 1 月 9 日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p>			
<ol style="list-style-type: none"> 1 GFP(+)ニューロンの特異性 2 Dgkg の In vivo での機能、非神経細胞での発現及び機能、成熟以降の発現、活性の変化 3 Dgkg がソマトスタチンニューロンに発現している意義 4 発達後期（P0 期）で解析をしている意味 5 標的分子のタンパクレベルの発現、活性レベルの調節及び転写レベルの調節 6 突起伸長のメカニズム、また成熟期における突起伸長以外の機能解析 			
<p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試問した結果、本学大学院博士課程を修了して学位を授与される者と同様以上の広い学識を有することを全員一致で確認した。</p>			