

学位論文審査結果の要旨

| | |
|--|---|
| 学位申請者 氏名 | 池田 麻美 |
| 審査委員 | 主査 鹿児島大学 准教授 塩崎 一弘 |
| | 副査 鹿児島大学 教授 小松 正治 |
| | 副査 鹿児島大学 准教授 吉崎 由美子 |
| | 副査 鹿児島大学 准教授 藤田 清貴 |
| | 副査 鹿児島大学 教授 小谷 知也 |
| 審査協力者 | |
| 題目 | シアリダーゼNeu1遺伝子欠損ゼブラフィッシュの 情動行動異常メカニズムの解明と精神疾患モデルとしての可能性 (Elucidation of the mechanism of abnormal emotional behavior in Neu1- knockout zebrafish and its potential as a model of psychiatric disorders) |
| <p>情動は、恐怖や怒り、不安などの本能的な感情であり、脊椎動物間で高く保存されている。情動のコントロール機構が破綻すると、人間ではうつ病などの精神疾患、野生動物では群れ形成の不全や摂餌行動の低下が引き起こされるなど、生命維持の危機に直面する。一般に、これら情動行動はオキシトシンなどのホルモンにより制御されるが、これらホルモンの産生や分泌を制御する上流因子については不明な点が多い。そこで本研究では、ヒト精神疾患においてその組成変化が報告されるシアロ複合糖質に着目し、脊椎動物におけるシアロ複合糖質の脱シアリル化が情動に与える影響と、およびその作用メカニズムの解明を目的とした。</p> <p>脊椎動物間で高く保存されているシアラ酸加水分解酵素Neu1に着目し、その遺伝子欠損ゼブラフィッシュ (KO) を用いることで、脱シアリル化と情動行動の関係性を評価した。行動試験の結果、群れ遊泳時のKOの個体間距離は野生型より広く、攻撃試験においてはKOで相手への追尾行動が著しく低下していた。これらの結果は、KOの社会性低下を示している。さらに、鏡試験や3-chambers試験により、KOの同魚種・異魚種に対する反応を観察したところ、通常逃避行動を示すはずの異魚種に対しても、KOは逆に接近行動を表した。また、</p> | |

黑白選好試験においてKOの白側領域遊泳時間が増加していた。以上の結果から、KOは不安感受性が低下し、それにより通常忌避反応を示すはずの異魚種への接近や白側領域への侵入を示すことが予想された。そこで社交性および不安関連遺伝子群の発現解析を行ったところ、ヒトオキシトシンホモログのイソトシンや神経ペプチドY、ミネラルコルチコイド受容体の遺伝子発現がNeu1遺伝子欠損により低下しており、KOにおける社会性の不安感受性の低下が確認された。また、野生型において不安時にNeu1遺伝子が発現亢進していたことから、Neu1が不安と社会性の2つの情動を制御する因子であることが明らかとなった。

次に、Neu1欠損による情動変化のメカニズムを明らかにするため、KO脳内における神経細胞とグリア細胞の性状を解析した。KOの脳では α 2-3シアロオリゴ糖の蓄積とリソソームエキソサイトーシスの亢進がタンパク質レベルで認められ、免疫組織染色の結果から、これらは主にミクログリアで生じている事が明らかとなった。KOミクログリアはアメボイド型の形態を示しており、M1マーカーのiNOSやIL-1 β が亢進していたことから、脱シアリル化の低下は傷害性ミクログリアへの活性化を促すことが分かった。このミクログリアの活性化により、KOの神経細胞においてネクロプトーシスによる細胞死が認められた。さらにKOミクログリアは同じグリア細胞のアストロサイトを活性化させ、GLAST1a(*eaat1a*)などのグルタミン酸トランスポーターの発現を低下させた。そこでKO脳における神経作動性ニューロン活性化を評価したところ、グルタミン酸作動性ニューロンで活性が低下していた。さらに解析を進めたところ、KOにおいてアストロサイト-前シナプス間のグルタミン酸伝達系が抑制され、それにより後シナプスのAMPA/NMDA/カイニン酸型受容体の遺伝子発現が減少し、神経可塑性が低下する機構が明らかとなった。不安や社会性を制御するHPA軸は、グリア細胞やグルタミン酸作動性ニューロンの下流に位置していることから、この経路がNeu1の情動制御において重要であることが強く示唆された。

以上、本論文において、シアロ糖鎖の脱シアリル化が不安や社会性といった情動を変化させる因子であること、そのメカニズムはミクログリアの脱シアリル化を起点としたアストロサイト/神経細胞の変容によるものであることが明らかにされた。脱シアリル化機構は脊椎動物全般で保存されているにもかかわらず、これまで情動との関連は明らかにされていなかった。また、本研究で見いだされたKOの情動行動やグリア・神経細胞の変容は、ヒト精神疾患と類似する点も多く、今後はKOの疾患モデルとしての応用も期待される。こうした理由から、本論文の学術的内容は動物行動学や神経科学、糖鎖生物学において高く評価されるものであり、博士（農学）の学位を与えるのに十分な価値を有するものと判断した。