

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 710 号	学位申請者	白川 由紀恵
審査委員	主査	後藤 哲哉	学位 博士 (医学 <u>歯学</u> 学術)
	副査	佐藤 友昭	副査 栗原 崇
	副査	松永 明	副査 比地岡 浩志

主査および副査の5名は、令和5年6月28日、学位申請者 白川 由紀恵 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) *Per, Cry* とはどのような遺伝子か？

(回答) 20種類程度ある時計遺伝子のうち、哺乳類において重要な働きをするもの。

質問2) *CRY* はがん治療に使えとのことだが、細胞周期にも関連するか？

(回答) 薬剤耐性を示す膀胱癌の再発には、細胞周期  $G_1/G_0$  が延長することが関連すると報告されている。

質問3) 免疫染色で *PER2* が細胞質に発現しており、核に移動していない理由は？

(回答) 実験した時間が発現の中間地点であり、細胞質にタンパク質が蓄積している段階であると考えられるため。

質問4) *Per, Cry* は体内のどの臓器、細胞にも発現しているのか？

(回答) 様々な組織で続々と報告されているが、現時点では生体内の全てに発現しているとは断言できない。

質問5) *Cry1<sup>-/-</sup>Cry2<sup>-/-</sup>* ではどうなるのか？なぜそれをしなかったのか？

(回答) *Cry1<sup>-/-</sup>Cry2<sup>-/-</sup>* マウスは生体の行動リズムが失われる。今回は *Cry1* と *Cry2* の *PER2* 発現リズムにおける影響を確認するため、それぞれのノックアウトマウスを使用した。

質問6) *PER1::LUC* での視交叉上核のリズムの報告を知っているが、*PER2* を調べた理由は？

(回答) *PER1::LUC* マウスでは、末梢組織では確認できないとの報告があり、今回は三叉神経節の概日リズムの存在自体を確認する研究であったため、末梢組織の概日リズムについて多数報告されている *PER2::LUC* を使用した。

質問7) 三叉神経節の右側を使用した理由は？

(回答) 三叉神経節は左右で機能的には同じ働きをしているため左右差はないと考えられるが、組織の小さい視交叉上核との比較や、各個体間の実験条件を揃えるため、右側のみを使用した。

質問8) 概日リズムが関係する顎顔面領域の疾患は？

(回答) 舌痛症の痛みや歯の痛みが夜間に強くなったり、群発頭痛に日内変動がある。

質問9) フィードバックループが約24時間なのはなぜか？

(回答) 細胞質から核内に移行するタイミングなどはまだ解明されておらず、その機序が解明されれば、24時間である理由も分かると考えられる。

## 最終試験の結果の要旨

質問 10) マウスやラットとヒトの概日リズムの関連性は？

(回答) 夜行性のマウスと昼行性のヒトの概日リズムが完全に逆転するということは解明されておらず、臨床的なヒトの痛みの日内変動の時間などからもマウスとヒトの概日リズムが逆になるということはいえない。

質問 11) 培養を始めるとリズムが開始するのか？生体内でもリズムがあるのか？

(回答) 生体内でも概日リズムを持っていると考えられるが、三叉神経節は生体内では視交叉上核からの制御を受けたリズムで発現しており、組織を取り出すと三叉神経節自体の特異的なリズムに変化すると考えられる。

質問 12) Figure 2C でトラフ時のアーチファクトのように見える部分は何か？

(回答) 液面によるアーチファクトも考えられるが、三叉神経節の神経細胞が集合している部分であり、神経細胞に発現している PER2 の発光自体が大きいと考えられる。

質問 13) Cry1<sup>+</sup>、Cry2<sup>+</sup>では行動にも特徴があるのか？

(回答) 今回の組織培養実験と同じように、常暗下では、野生型に比べて行動リズムが Cry1<sup>+</sup>は周期が短くなり、Cry2<sup>+</sup>では周期が長くなるという報告がある。

質問 14) 視交叉上核と三叉神経節の関係性は？どのようにシグナルが送られているのか？

(回答) 明確には解明されていないが、現時点ではメラトニンやコルチゾールのようなホルモンによる手段と自律神経系などの神経的な繋がりによる手段が考えられる。

質問 15) 視交叉上核付近の視床下部や大脳皮質での概日リズム実験はあるのか？

(回答) 脳の視交叉上核以外の部分での概日リズムの実験報告は多数存在する。

質問 16) 三叉神経節の神経細胞の種類や、眼神経・上顎神経・下顎神経の三叉神経枝による違いは？

(回答) 本研究では細胞種や神経による違いについては解析を行っていないが、免疫染色で各細胞での発現量に若干の違いが見られたり、イメージングにおいて神経枝による位相の若干のずれが見られる。

質問 17) 痛みを感じるのは大脳皮質であるが、末梢組織で概日リズムを持つ理由は？

(回答) 刺激による生体的ストレスの軽減のため、末梢組織での概日リズムにより中枢への活動電位の伝達が増減されることが末梢組織の役割の一つではないかと考える。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(歯学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。