

氏名	大野 博		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 9180 号		
学位授与年月	平成 31年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	脳における脂肪酸伸長酵素 Elov16 の役割の解明		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	梶 正幸
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	坂口 昌徳
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	冨所 康志
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	加藤 貴康

論文の内容の要旨

大野博氏の博士学位論文は、脳特異的 Elov16 欠損マウスを用いて脳における Elov16 の役割を検討したものである。その要旨は以下の通りである。

(目的)

脳は多彩で豊富な脂質を含み、その量的・質的变化は脳機能に影響を及ぼす。非必須脂肪酸である飽和および一価不飽和脂肪酸は脳含量が多く重要な役割を担うと考えられるが、その生理的な意義や病態との関連は不明な点が多い。Elongation of very long chain fatty acid (Elov1) ファミリーに属する Elov16 は脂質合成転写因子 Sterol regulatory element-binding protein の標的遺伝子として同定された脂肪酸伸長酵素の1つであり、炭素数 12~16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし炭素数 18 以上の長鎖・極長鎖脂肪酸を合成する。Elov16 を全身性に欠損させたマウスでは、脳の脂肪酸組成の変化とともに脳重量の増加と行動異常などの表現型が観察される。しかしながら、脳における Elov16 の役割や Elov16 欠損により機能異常が生じる機序は明らかにされていない。そこで、著者は、Elov16 の脳における役割を明らかにすることを目的として、脳特異的に Elov16 を欠損させたマウスを作製し、形態および機能の異常を解析している。

(方法)

著者は、神経幹細胞に発現する Nestin 遺伝子のプロモーター下に Cre リコンビナーゼを発現する Nestin-Cre マウスと Elov16^{flox/flox} (flox) マウスを交配し、脳特異的 Elov16 欠損 (BKO) マウスを作製している。成獣 BKO マウスおよびコントロールの flox マウスを用いて、著者は、脳脂肪酸組成解析、脳の形態解析 (HE 染色、ゴルジ染色、免疫組織化学)、神経新生の評価、行動解析、神経幹細胞培養、遺伝子解析 (リアルタイム PCR、RNA-seq 解析)、ウェスタンブロット解析を定法に従って行っている。

(結果)

著者は、BKO マウスでは脳でのみ Elov16 の発現が欠損していること、脳重量が増加していること、

海馬および大脳皮質でパルミチン酸 (C16:0)、パルミトオレイン酸 (C16:1 n-7)、バクセン酸 (C18:1 n-7) の割合が増加し、ステアリン酸 (C18:0) の割合が減少することを明らかにしている。著者は、成獣を用いた行動実験を行い、オープンフィールド試験において BKO マウスの中心領域滞在時間と臭い嗅ぎの回数が減少すること、モリス水迷路試験において見えないプラットフォームの位置を探索・学習させる課題では BKO マウスでプラットフォームにたどり着くまでの時間が長くなるが、目視できる課題では flox マウスと比べて差が無いことなどを明らかにしている。著者は、ゴルジ染色を行い、BKO マウス海馬において樹状突起スパインの密度が低下し、成熟型 (マッシュルーム型) のスパインの割合が減少し、未成熟型のスパインの割合が増加することを明らかにしている。著者は、EdU 取り込み法による神経新生の評価を行い、BKO マウスの海馬歯状回顆粒細胞層下帯において EdU 陽性細胞数が減少していることを明らかにしている。著者は、ニューロスフェア法を用いた神経幹細胞の解析を行い、BKO マウス由来のニューロスフェアのサイズが flox マウス由来のニューロスフェアに比べて減少していることを明らかにしている。最後に、著者は、脂肪酸がニューロスフェア形成に及ぼす影響を検討し、ある特定の脂肪酸の添加が BKO マウス由来のニューロスフェアのサイズを flox マウス由来のニューロスフェアと同程度まで回復させることを明らかにしている。

(考察)

全身性に Elov16 をノックアウトしたマウス (全身 KO マウス) では、神経系の異常以外に、肥満に伴うインスリン抵抗性の改善、動脈硬化の抑制、非アルコール性脂肪性肝炎の発症抑制、肺線維症の増悪、膵β細胞の保護作用、2型糖尿病の発症抑制など多彩な表現型が観察される。そのため神経系の表現型が脳における Elov16 の機能欠損によるのか、全身性変化の二次的な影響であるのかは明らかではなかった。本研究において、著者は脳特異的 Elov16 欠損マウス (BKO マウス) の異常を検討することにより、脳における Elov16 の役割を明らかにしている。著者は、BKO マウスが全身 KO マウスで見られたのと同じ脳脂肪酸組成の変化と脳重量の増加を示すことを明らかにしている。行動解析では、BKO マウスがオープンフィールド試験において中心領域滞在時間と臭い嗅ぎの回数の減少を示すことから不安の亢進が示唆される。また、BKO マウスが全身 KO マウスと同様モリス水迷路試験で記憶・学習の障害を示すことを明らかにしている。これらの行動異常を引き起こす基盤として、海馬歯状回ニューロンのスパイン密度が減少し、未熟型スパインが増加していること、神経新生が低下していること、神経幹細胞の増殖が低下していることが示唆される。さらに、ある特定の脂肪酸の添加によりニューロスフェアの低形成が改善することを示している。これらの結果から、著者は、Elov16 が神経幹細胞の増殖に極めて重要であり、その欠損が脳の形成および機能の異常を引き起こすこと、Elov16 により合成される脂肪酸またはその代謝物質が神経幹細胞の増殖制御に必要なことを明らかにしている。

審査の結果の要旨

(批評)

大野博氏は、Elov16 が脳において脂肪酸の合成を介して神経幹細胞の増殖シグナルを制御し、神経新生および脳機能に重要な役割を担うことを明らかにしている。Elov16 により合成される脂肪酸またはその代謝産物が脳機能に重要であることを示す本研究の成果は、これまでに知られていない大きな発見であり、飽和・一価不飽和脂肪酸の質的・量的変化が脳機能異常を引き起こす可能性があることを示唆しており、今後の神経・精神疾患の病態解明や新規治療法の開発などの応用研究にも役立つことが期待される。

平成31年1月7日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。