

(様式 3)

論文内容の要旨

氏名 平田 晴菜

Caspr ファミリーは neurexin スーパーファミリーに属する細胞接着分子である。近年、脳機能における細胞接着分子が持つ役割が注目されている。特に Caspr ファミリーの Caspr2 と Caspr4 は自閉スペクトラム症原因候補遺伝子の 1 つとして挙げられている。Caspr3 は、2002 年に Spiegel らによって同定された。また 2015 年にはクローン病患者の大腸で、Caspr3 の mRNA が増加していることが報告された。しかし、Caspr3 と脳機能との関連については報告がない。Caspr3 は大脳の広い範囲で mRNA の発現が見られていることから、運動、認知、記憶、情動など様々な機能に関与する可能性が考えられる。本研究では、Caspr3 のマウス脳における機能的意義を明らかにすることを目的とし、脳内での局在解析および Caspr3 遺伝子欠損型 (K0) マウスの行動解析を行った。

まず、Caspr3 がどの時期に強く発現するのかを調べるために、Western blotting により、発達に伴う Caspr3 のタンパク質発現変化を調べた。Caspr3 は胎生期から発現しており、生後 1、2 週間でピークを迎え、成体ではほとんど発現していなかった。このことから Caspr3 は、発達期の脳において重要な役割を持つことが示唆された。

次に、脳内における Caspr3 の発現領域および細胞を明らかにするため、免疫組織染色を行った。Caspr3 は胎生期から成体まで、線条体を含む大脳基底核に強く発現していた。Caspr3 の発現が最も強い生後 1 週間のマウス脳では、Caspr3 はアセチルコリン作動性インターニューロンと、一部の投射ニューロン medium spiny neuron (MSN) に局在していた。大脳基底核の神経回路は、投射様式によって直接路と間接路の 2 つに分けられる。また線条体には、matrix と striosome と呼ばれる 2 つのコンパートメントが存在する。MSN は各経路および各コンパートメントに存在し、それぞれマーカータンパク質で区別できる。各経路およびコンパートメントの MSN における Caspr3 の発現を、マーカータンパク質との免疫蛍光二重染色により調べるところ、Caspr3 は両方の経路およびコンパートメントの MSN に発現していた。これらの結果から、Caspr3 は経路やコンパートメント特異的ではないことが示唆された。また MSN は、生後 2 週間の間に形態学および生理学的に変化し成熟する。このことから **Caspr3** は、特定の機能に関わる **MSN** の発達および成熟に関与することが考えられる。

大脳基底核は主に運動機能を担う領域であり、大脳基底核の損傷はパーキンソン病やハンチントン病といった不随意運動を引き起こす。Caspr3 K0 マウスには、顕著な運動障害は認められていない。しかし、目視では確認できない行動学的異常が、Caspr3 K0 マウスに見られる可能性があると考えた。そこで運動機能の評価を中心とした行動テストバッテリーを組み、Caspr3 K0 マウスの行動解析を行った。Caspr3 K0 マウスは自発活動量、作業記憶、恐怖条件付け学習、驚愕反応、痛覚などの機能に異常はなかった。自閉スペクトラム症原因候補遺伝子の Caspr2 および Caspr4 の K0 マウスでは、社会性行動の低下や不安様行動の増加がみられる。しかし Caspr3 K0 マウスは、これらの行動にも異常がなかった。一方、運動協調性および運動学習能力を検討する加速式ロータロッドテスト

を5日間行ったところ、Caspr3 KO マウスは初期の運動パフォーマンスが野生型 (WT) マウスに比べて低かった。後半の運動パフォーマンスは WT マウスと変わらないことから、Caspr3 KO マウスの運動協調性には異常がないと考えられる。そこで5日間の運動パフォーマンススコアから、各日の運動学習率を算出した。Caspr3 KO マウスは、初日の運動学習率が WT マウスに比べて有意に低かった。このことから、Caspr3 が運動学習に関与していることが示唆された。

先行研究では、加速式ロータロッドテストによる運動後のマウス脳において背側線条体、小脳、運動皮質、帯状皮質で神経活性化マーカーc-Fos の発現が増加することが報告されている。そこで、Caspr3 KO マウス脳の運動関連領域における運動後の神経活性化を、c-Fos 抗体を用いた免疫染色により調べた。2 要因分散分析の結果から、背側線条体の c-Fos 陽性細胞数に対して、遺伝子型と運動の交互作用に有意性がみられた。また多重比較検定の結果、Caspr3 KO マウスの運動後の背側線条体の c-Fos 発現細胞数は、WT マウスに比べて少ないことが明らかになった。一方、小脳と運動皮質、帯状皮質では、Caspr3 WT マウスと KO マウスの間で c-Fos 発現細胞数の有意な差はみられなかった。

以上のことから、Caspr3 が運動による背側線条体の神経活性化に必要であることが示唆され、Caspr3 が運動学習において重要な役割を持つことが考えられる。

本研究の結果は、線条体が担う運動学習の分子メカニズム解明につながることを期待される。また近年では、パーキンソン病患者のバランスの不安定性および歩行障害の治療として、運動学習に基づいた運動療法が用いられている。Caspr3 の機能解明は、運動学習の基礎研究として貢献できるものであり、運動学習研究の発展は運動障害のリハビリテーションに役立つことが期待できる。