

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	山岸 達矢
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 834 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Molecular diversity of clustered protocadherin- $\alpha$ required for sensory integration and short-term memory in mice (クラスター型プロトカドヘリン $\alpha$ の分子多様性に依存するマウス感覚統合機能と短期記憶)
論文審査委員	主査 教授 小野寺 理 副査 教授 堀井 新 副査 教授 竹林 浩秀

### 博士論文の要旨

【はじめに】神経特異的細胞接着因子のクラスター型プロトカドヘリン (cPcdh) は、個々の神経細胞にランダムに発現するが、なぜこの分子多様性が必要なのかはよく判っていない。cPcdh  $\alpha$  の  $\alpha 2$  から  $\alpha 11$  までの部分を欠損させたマウス (cPcdh  $\alpha 1, 12$  マウス) は、cPcdh  $\alpha$  の全発現量は不変であるが、分子多様性は減少している。このマウスは外見上や目立つ機能上の異常はない。しかし複雑な神経回路形成に関与すると想定されている cPcdh の分子多様性が減少すると、複雑な神経回路に依存する高次脳機能が障害される可能性がある。そこで申請者らは cPcdh  $\alpha 1, 12$  マウスの高次脳機能を精査した。

### 【方法と結果】

#### ① ヒゲ感覚と視覚のミスマッチによる一次視覚野可塑性の解析

ヒゲ感覚と視覚のミスマッチによる一次視覚野可塑性は、cPcdh  $\alpha$  欠損マウスで障害されるので、cPcdh  $\alpha 1, 12$  マウスでも障害されている可能性がある。そこで4週齢のcPcdh  $\alpha 1, 12$  マウスの左眼の前にプリズムを装着して視覚とヒゲ感覚の間に空間的ミスマッチを導入した。一週間後に一次視覚野の応答を、経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングによって解析した。野生型マウスではプリズム装着によって一次視覚野応答の抑圧が生じた。しかし、cPcdh  $\alpha 1, 12$  マウスでは抑圧が生じなかった。

#### ② 視覚的空間情報の短期記憶テスト

ヒゲ感覚と視覚のミスマッチによる一次視覚野可塑性は後部頭頂連合野に依存するが、この部位は視覚的空間情報の短期記憶にも重要である。そこでT字迷路を用いて視覚依存タスクと記憶依存タスクの2種類の課題をマウスに行わせた。視覚依存タスクはT字迷路の分岐点に指標を置き、特に短期記憶が無くても可能な課題である。一方、記憶依存タスクはT字迷路の出発点に指標をおき、指標の空間位置に関する短期記憶がないと出来ない課題である。野生型マウスは視覚依存タスクで正しい迷路を選択することを学習した。正答率は20日/セッション前後でプラトーに達した。その後記憶依存タスクを行うと、正答率は一時的に低下したが徐々に再上昇し、視覚依存タスクとほぼ同等のレベルとなった。一方、cPcdh  $\alpha 1, 12$  マウスでは視覚依存タスクの成績は野生型と同等であった。しかし記憶依存タスクの成績は野生型よりも有意に低かった。

#### ③ 視覚的形状情報の短期記憶テスト

cPcdh  $\alpha$  は全脳で発現するので、視覚的空間情報の短期記憶をテストするならば、同時に視覚的形狀

情報の短期記憶もテストすべきである。そのため申請者らは M 字迷路を新規に開発し、視覚依存タスク（見本合わせテスト）と記憶依存タスク（遅延見本合わせテスト）をマウスに行わせた。視覚依存タスクは見本図形提示の直後に二種類の図形の中から同じ形状の図形を選択させるが、記憶依存タスクは見本図形の提示から図形選択の間に 20 秒間の遅延時間があるため、形状情報に関する短期記憶保持が必要となる。野生型マウスは視覚依存タスクを開始すると、形状を判断して正しい迷路を選択することを学習した。正答率は 20 日/セッション前後でプラトーに達した。その後見本図形の提示と図形選択の間に 20 秒の遅延がある記憶依存タスクを行うと、正答率は一時的に低下したが徐々に再上昇し、視覚依存タスクとほぼ同等のレベルとなった。一方、cPcdh $\alpha$  1,12 マウスでは視覚依存タスクの成績は野生型と同等であったが、記憶依存タスクの成績は野生型よりも有意に低かった。

#### ④ 音と図形の連想記憶テスト

既述の M 字迷路を用いると、聴覚と視覚の統合機能を解析することができる。まず視覚依存タスク（見本合わせテスト）で 1 対 1 対応のある音と図形の組み合わせを 2 組用意し、図形の提示と音の提示を同時に行う。連想記憶依存タスクでは図形は提示されず、音のみが提示されるためマウスは 1 対 1 対応のある図形を提示された音から連想して選択する必要がある。野生型マウスは視覚依存タスクも連想記憶依存タスクも可能であった。cPcdh $\alpha$  1,12 マウスは、視覚依存タスクは野生型マウスと同様に可能であったが、連想記憶依存タスクの成績が野生型マウスに比して有意に低かった。

【考察】cPcdh $\alpha$  の分子多様性減少マウスでは、異なる感覚入力の統合機能および空間情報や形状情報を保持する短期記憶に障害があることが示された。cPcdh $\alpha$  の分子多様性は、高次機能に必要な複雑な神経回路の形成に必要であると思われる。

#### 審査結果の要旨

神経特異的細胞接着因子のクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）は、個々の神経細胞にランダムに発現する。この多様性は、神経回路形成の多様性に関与すると想定されているが、その詳細は判っていない。申請者らは、cPcdh の分子多様性が減少すると、神経回路に依存する高次脳機能が障害される可能性があると考え、この仮説を検証するため、cPcdh $\alpha$  の  $\alpha 2$  から  $\alpha 11$  までの部分を欠損させたマウス（cPcdh $\alpha$  1,12 マウス）を用い検証した。本マウスは、cPcdh $\alpha$  の全発現量は不変であるが、分子多様性は減少する。また、このマウスは外見上や目立つ機能上の異常はない。申請者らは cPcdh $\alpha$  1,12 マウスの高次脳機能について次の結果を得た。①ヒゲ感覚と視覚のミスマッチによる一次視覚野可塑性の障害。ヒゲ感覚と視覚のミスマッチによる一次視覚野可塑性は、cPcdh $\alpha$  欠損マウスでは障害される。よって、cPcdh $\alpha$  1,12 マウスでも障害されると想定した。4 週齢の cPcdh $\alpha$  1,12 マウスの左眼の前にプリズムを装着して視覚とヒゲ感覚の間に空間的ミスマッチを導入した。一週間後に一次視覚野の応答を、経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングによって解析した。野生型マウスではプリズム装着によって一次視覚野応答の抑圧が生じた。しかし、cPcdh $\alpha$  1,12 マウスでは抑圧が生じなかった。② 視覚的空間情報の短期記憶の障害。ヒゲ感覚と視覚のミスマッチによる一次視覚野可塑性は後部頭頂連合野に依存するが、この部位は視覚的空間情報の短期記憶にも重要である。そこで視覚的空間情報の短期記憶に異常をきたしている可能性を考え、T 字迷路を用い、視覚依存タスクと記憶依存タスクの 2 種類の課題を行った。視覚依存タスクは、T 字迷路の分岐点に指標を置き、短期記憶が無くても可能な課題である。一方、記憶依存タスクは、T 字迷路の出発点に指標をおき、指標の空間位置に関する短期記憶を必要とする課題である。

cPcdh $\alpha$  1,12 マウスでは視覚依存タスクの成績は野生型と同等であったが、記憶依存タスクの成績は野生型よりも有意に低かった。③視覚的形状情報の短期記憶の障害。cPcdh $\alpha$ は全脳で発現するので、視覚的形状情報の短期記憶障害も伴っている可能性がある。そのため申請者らは、形状情報に関する短期記憶保持が必要となる M 字迷路課題を新規に開発した。本課題では視覚依存タスクは見本図形提示の直後に二種類の図形の中から同じ形状の図形を選択させるが、記憶依存タスクは見本図形の提示から図形選択の間に 20 秒間の遅延時間があるため、形状情報に関する短期記憶保持が必要となる。Pcdh $\alpha$  1,12 マウスでは視覚依存タスクの成績は野生型と同等であったが、記憶依存タスクの成績は野生型よりも有意に低かった。④音と図形の連想記憶の障害。この M 字迷路を用い、聴覚と視覚の統合機能を解析した。まず視覚依存タスク（見本合わせてスト）で 1 対 1 対応のある音と図形の組み合わせを 2 組用意し、図形の提示と音の提示を同時に行った。次に、連想記憶依存タスクでは図形は提示されず、音のみが提示される。このためマウスは先のタスクから、音から連想して選択する必要がある。cPcdh $\alpha$  1,12 マウスは、視覚依存タスクは野生型マウスと同様に可能であったが、連想記憶依存タスクの成績が野生型マウスに比して有意に低かった。これらの結果から、cPcdh $\alpha$  の分子多様性減少マウスでは、異なる感覚入力の統合機能および空間情報や形状情報を保持する短期記憶に障害があることが示された。cPcdh $\alpha$  の分子多様性は、高次機能に必要な複雑な神経回路の形成に必要であると結論した。

神経特異的細胞接着因子のクラスター型プロトカドヘリンは極めて多様性に富むが、その生物学的意義は不明であった。申請者らは、本分子の量は維持し、その多様性のみを喪失させた遺伝子改変マウスを用い、プロトカドヘリンの多様性が、高次脳機能に与える影響を明らかにした。このマウスでは、組織化学的な異常は指摘出来なかったが、限局した高次脳機能障害を認めた。この事実は、特定の高次脳機能の獲得に、細胞接着因子である本分子の多様性が寄与していることを示している。これは、神経回路網形成の分子機序の解明に繋がる知見で有り、大変、興味深い発見である。この点に、学位論文としての価値を認める。