

## 論文審査の結果の要旨

氏名：岩 佐 聡 子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬が幼若期の *Mecp2* 欠損マウスの呼吸中枢機能に及ぼす影響

審査委員：(主査) 教授 大井良之

(副査) 教授 白川哲夫

教授 浅野正岳

教授 越川憲明

メチル化 CpG 結合タンパク 2 (MeCP2) をコードする遺伝子 *MECP2* の異常により発症する疾患としてレット症候群が知られており、*Mecp2* を欠損したモデルマウスでは、呼吸異常などレット症候群患者と類似した症状がみられることが報告されている。レット症候群児では歯科治療などのストレス負荷時に無呼吸発作が頻発することから、病態を改善させる安全で効果的な治療薬の開発が望まれている。てんかんの治療薬として使用されているバルプロ酸ナトリウム (sodium 2-propylpentanoate : VPA) は、多くの遺伝子の発現を抑制するとされるヒストン脱アセチル化酵素に対して阻害薬として働くことが分かっており、約 60% にてんかん発作がみられるレット症候群患者に対しても高い頻度で使われている。しかしながら、現在のところ VPA が *Mecp2* を欠損したマウスの中枢にどのような作用を及ぼすのかについては明らかでなく、レット症候群患者の無呼吸発作に対する VPA の効果も明確ではない。

本研究では、*Mecp2* を欠損した 2 週齢の幼若期マウスに対する VPA の効果を、無呼吸の改善の有無によって確認するとともに、呼吸中枢におけるヒストンのリジン残基でのアセチル化への影響についても検討している。実験動物として *Mecp2* ヘテロ欠損雌マウス (B6; 129P2 (C) - *Mecp2*<sup>tm1.1Bird/J</sup>) から生まれた *Mecp2* 欠損雄仔 (hemi) マウス、および C57BL/6J 野生型雌マウスから生まれた野生型雄仔 (wild) マウスを使用した。Wild ならびに hemi マウスに対し、生後 8 日から 14 日まで VPA を毎日腹腔内投与した (VPA 群)。またコントロールとして各マウスに VPA 溶液と同量の生理食塩水 (saline) を腹腔内投与した (saline 群)。両群の wild ならびに hemi マウスについて、生後 15 日に全身型プレチスモグラフにて無呼吸回数をカウントした。さらに、延髄腹側呼吸中枢 (VRG) でのヒストンアセチル化レベルを測定するために蛍光免疫組織染色を行った。VPA あるいは saline を 7 日間投与した wild ならびに hemi マウスの脳をアセチル化されたヒストンに対する H3K9, H3K14, H4K5, H4K8 抗体と NeuN 抗体、さらに蛍光標識二次抗体で染色し、DAPI を含む封入材にて封入した。VRG を観察し、NeuN 陽性細胞を選別したのち DAPI の輝度を基準に各細胞でのアセチル化ヒストンの輝度の比を算出した。

上記の実験により、以下に示す知見が得られている。

1. Saline 群の hemi マウスは wild マウスよりも有意に無呼吸回数が多かった ( $P < 0.001$ )。
2. VPA の投与により、wild マウスでは無呼吸回数に変化はみられなかったが、hemi マウスでは無呼吸回数が有意に減少した ( $P < 0.01$ )。
3. H3K14 と H4K8 では、VPA 投与を行った場合でも wild, hemi マウスともにアセチル化レベルに変化はみられなかったが、H3K9 と H4K5 では wild ならびに hemi マウスともにアセチル化レベルが上昇し、hemi マウスでは H3K9, H4K5 ともに VPA 群でより著明なアセチル化レベルの上昇を認めた ( $P < 0.001$ )。

以上より、VPA の投与によって呼吸中枢ニューロンでのヒストンアセチル化が亢進したことで呼吸調節に関与する遺伝子の発現が増加したことが推測され、結果として hemi マウスの無呼吸回数の減少に結びついたと結論づけている。

本論文は、VPA が幼若期の hemi マウスの呼吸中枢機能の改善に有効であることを初めて示したものであり、レット症候群患者の病態改善ならびに歯科医療における合併症予防に寄与するところが大きい。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 28 年 3 月 9 日