

Title	Deletion of JMJD2B in neurons leads to defective spine maturation, hyperactive behavior, and memory deficits in mouse
Author(s)	藤原, 慧
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/55737">https://hdl.handle.net/11094/55737</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	藤原 慧
論文題名 Title	Deletion of JMJD2B in neurons leads to defective spine maturation, hyperactive behavior, and memory deficits in mouse (神経細胞における JMJD2B 欠損はスパイン成熟障害、多動、記憶障害を引き起こす)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>自閉症、注意欠陥性多動性障害、精神遅滞といった発達障害において、神経細胞における樹状突起スパインの異常が報告されている。一方で、近年、発達障害とエピジェネティクス関連遺伝子異常に関する知見が集積しており、実際に自閉症患者において複数のヒストンメチル化修飾遺伝子の変異が検出されている。我々はその中からヒストン脱メチル化酵素JMJD2Bに着目し、JMJD2B欠損が樹状突起スパインに及ぼす影響およびマウスの行動に及ぼす影響に関して検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>我々は、最初に <i>In situ</i> hybridization法を用いてJMJD2Bの発現分布を検討した。その結果JMJD2Bは中枢神経系に非常に高い発現を示し、その中でも海馬では胎生期から成体まで一定した高い発現を示した。さらにJMJD2Bが発現している細胞の種類を検証するため、神経細胞のマーカーであるNeuNおよびアストロサイトのマーカーであるGFAPを用いて成体海馬の免疫染色を行ったところ、JMJD2Bは神経細胞優位に発現していることが明らかになった。</p> <p>続いて神経系におけるJMJD2Bの機能を解析するため、JMJD2BをLox-P配列で挟んだマウスとtauのプロモーター下でCreを発現するマウスを交配させることで神経細胞特異的にJMJD2Bを欠損させたマウス（ノックアウトマウス）を作製した。まず、JMJD2B欠損が海馬神経細胞の樹状突起形成におよぼす影響を調べるため、生後0日の野生型およびノックアウトマウスの海馬を単離、神経細胞培養を行い樹状突起の形態について評価を行った。しかしながら樹状突起形成については両群で有意な差は認められなかった。続いて、JMJD2Bが海馬神経細胞の樹状突起スパインにおよぼす影響を調べるため、8週齢の野生型およびノックアウトマウスの脳を用いてゴルジ染色を行った。海馬CA1領域の錐体細胞の遠位部（細胞体から120～300μm）の先端樹状突起は海馬CA3領域からの入力を受けると考えられており、同部位におけるスパインの密度、形態を評価した。その結果、ノックアウトマウスでは野生型と比較してスパイン密度が有意に上昇していた。さらにノックアウトマウスではfilopodia型という未熟なスパインが増加しており、mushroom型という成熟したスパインが減少していた。このことはノックアウトマウスでスパインの成熟障害が起こっていることを示唆する。</p> <p>最後にJMJD2B欠損がマウスの行動におよぼす影響を評価した。まず、マウスの形態、行動、感覚の異常などをスクリーニング法するSHIRPA試験を行った。その結果、ノックアウトマウスでは発声量が有意に増加しており、易興奮性が認められた。続いてオープンフィールド試験を行い、マウスの自発行動を評価した。その結果、ノックアウトマウスは有意に多動であり、新規環境への馴化に異常をきたしていた。またフィールド内での立ち上がり行動が有意に増加しており、いわゆる「落ち着きのない状態」であることがわかった。最後にY-maze試験を行い、マウスの短期記憶に関する評価を行った。その結果、ノックアウトマウスでは短期記憶が有意に障害されていた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>ヒストン脱メチル化酵素JMJD2Bが海馬において胎生期から成体まで高い発現を示し、神経細胞におけるJMJD2Bの欠損により海馬CA1領域におけるスパイン成熟が障害される。さらにJmjd2bノックアウトマウスは、多動、馴化異常、短期記憶障害といった行動異常を示すことが明らかになった。これらの結果は、中枢神経系におけるヒストンメチル化制御の重要性を示唆している。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤原 慧	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 山下 俊英
	副 査 大阪大学教授 菊池 真
	副 査 大阪大学教授 佐藤 真
論文審査の結果の要旨	
<p>自閉症、注意欠陥性多動性障害、精神遅滞といった発達障害において、神経細胞における樹状突起スパインの異常が報告されている。一方で、近年、発達障害とエピジェネティクス関連遺伝子異常に関する知見が集積しており、実際に自閉症患者において複数のヒストンメチル化修飾遺伝子の変異が検出されている。我々はその中からヒストン脱メチル化酵素JMJD2Bに着目し、JMJD2B欠損が樹状突起スパインに及ぼす影響およびマウスの行動に及ぼす影響に関して検討した。</p> <p>JMJD2Bは中枢神経系に非常に高い発現を示し、海馬では胎生期から成体にかけて一定した高い発現を認めた。続いてJMJD2Bを神経細胞特異的に欠損させたノックアウトマウスを作製し、ノックアウトマウスの海馬におけるスパインの数が有意に増加していること、さらにスパインの成熟障害が起こっていることが明らかにした。さらにノックアウトマウスは有意に多動であり、新規環境への馴化異常を示すこと、さらに短期記憶障害を示すことを明らかにした。中枢神経系におけるヒストンメチル化制御の意義はほとんど解明されておらず、発達障害との関連性を示した本研究の重要性は高く、学位に値すると考える。</p>	