

博士学位審査 論文審査報告書（課程内）

大学名 早稲田大学
 研究科名 大学院人間科学研究科
 申請者氏名 山田 晴也
 学位の種類 博士（人間科学）
 論文題目（英文） Molecular mechanisms regulating brain development
 論文題目（和文） 脳構築機構を制御する分子メカニズムの解明

公開審査会

実施年月日・時間 2021年12月6日・13:00-14:30

実施場所 早稲田大学 所沢キャンパス100号館 205教室

論文審査委員

	所属・職位	氏名	学位（分野）	学位取得大学	専門分野
主査	早稲田大学・教授	榊原 伸一	博士（医学）	東京大学	分子生物学、神経解剖学
副査	早稲田大学・教授	掛山 正心	博士（人間科学）	早稲田大学	環境医学、予防医学
副査	早稲田大学・教授	原 太一	博士（医学）	九州大学	食品科学、分子細胞生物学

論文審査委員会は、山田 晴也氏による博士学位論文「脳構築機構を制御する分子メカニズムの解明」について公開審査会を開催し、以下の結論を得たので報告する。

公開審査会では、まず申請者から博士学位論文について40分間の発表があった。

1 公開審査会における質疑応答の概要

申請者の発表に引き続き、以下の質疑応答があった。

1.1 質問：Nwd1強制発現の際と同様にFgamsの強制発現でプリノソーム誘導されているように見える。プリノソーム形成に対してFgamsなどの構成酵素の量の変化が影響するか？

回答：Fgamsの強制発現でプリン新生が上昇するという報告があるがプリノソーム形成が誘導されるかは明らかでない。Nwd1強制発現によって機能的なプリノソーム誘導が増加する可能性がある。

1.2 質問：Nwd1の転写調節が幹細胞や癌で活性化する可能性は？

回答：Nwd1遺伝子のプロモーター内にSOX転写因子結合配列があり、実際、前立腺

癌ではSOXファミリーの一つSRYが結合して男性ホルモン依存的に転写が活性化される。Sox2は神経幹細胞の維持に重要な転写因子であり、Sox2依存的な転写調節が起きている可能性がある。

- 1.3 質問：Nwd1陽性の癌の特徴はあるか？ ES細胞や癌幹細胞Cancer stem cellでの発現はあるか？

回答：前立腺癌や子宮頸癌などを含め、ほぼ全ての癌腫でプリン新生が上昇する。Nwd1によるプリン新生がこれらの幹細胞の維持に働いている可能性がある。

- 1.4 質問：Nwd1発現の時間的・空間的な機能は？ヘテロトピア内のニューロンは全てグルタミン酸作動性ニューロンか？抑制性ニューロンやソマトスタチン陽性ニューロンなどでの発現、生後の小脳での発現は？

回答：生後6日目の脳で観察されたパターンはGABAergicニューロンの前駆細胞での発現に相当する。一方、今回Nwd1発現抑制で見ているのは垂直移動する大脳皮質ニューロンが大部分であり、接線方向に移動様式を持つGABAergicニューロンなどは見れていない。ヘテロトピア内のニューロンはグルタミン酸作動性興奮性ニューロンが大部分であったが、それ以外の成分が存在する可能性もある。生後小脳での発現はプルキンエ細胞で陽性であった。

- 1.5 質問：Nwd1は細胞の分化、移動あるいは突起伸長のどこに機能するのか？

回答：Nwd1強制発現、抑制により幹細胞の増殖性が抑制された結果、分化や移動に影響が出た可能性がある。

- 1.6 質問：海馬でニューロン分化、移動への影響は？

回答：観察できていない。胎仔海馬への遺伝子導入で観察を検討できる。

- 1.7 質問：postnatalな脳機能の改善などへの展開は？

回答：てんかんモデルマウスの成獣脳でNwd1の発現抑制で発作が抑えられるという報告がある。Nwd1を標的として生後の脳機能を改変できる可能性がある。統合失調症患者でNwd1 SNPが報告されておりNwd1異常の生後の表現型に関係する可能性がある。

- 2 公開審査会で出された修正要求の概要：特になし。

3 本論文の評価

- 3.1 本論文の研究目的の明確性・妥当性：外部環境変化や代謝の需要に応じて、細胞内では代謝経路を構成する酵素群が離合集散する多酵素タンパク質複合体“メタボロン”が形成される可能性が示唆されているが、その実態や制御は不明である。プリンの *de novo* 生合成経路に寄与するメタボロンであるプリノソームに注目し、その形成の分子的な仕組みと哺乳類の脳形成における役割を解明することを目的とした挑戦的な研究である。プリン合成はヒトの脳形成のみでなく癌発症の重要な因子であることから、プリン新生の機構を解明する本研究の目的は妥当であり明確である。

- 3.2 本論文の方法論（研究計画・分析方法等）の明確性・妥当性：本論文は、Nwd1

遺伝子の同定と機能解明のために、遺伝子組み換え技術、培養細胞への遺伝子導入などの細胞生物学的手法、マウス胎仔脳への遺伝子導入と脳の顕微鏡観察などの組織学的解析手法を用いている。これらの研究手法は神経科学分野における最新の研究手法であり、適切妥当な定量化手法と統計解析により結論されたものである。なお本研究は早稲田大学「遺伝子組換え実験審査委員会」(WD20-098、WD20-099、WD20-069、WD21-122、WD21-123、WD21-124、WD21-125)および「動物実験審査委員会」(2020-A119、2021-A093、2021-A095、2021-A096)の承認に基づき実施されており、早稲田大学生物実験安全管理規程に従い適切に遂行されていると評価した。

- 3.3 本論文の成果の明確性・妥当性：哺乳類脳の神経幹細胞で豊富に発現する新規遺伝子として *Nwd1* 遺伝子が同定された。*Nwd1* が神経幹細胞及び移動中のニューロンで発現していることを明らかにした。さらに *Nwd1* がプリン合成酵素 *Paics* に結合し、プリノソームに集積すること、神経幹細胞で *Nwd1* 発現抑制するとプリノソーム形成が抑制されることを示した。また、胎仔脳で *Nwd1* を発現操作すると、神経幹細胞の増殖異常、神経細胞の移動異常、異所性に神経細胞塊へテロトピアが作られることを示した。一連の実験により、*Nwd1* がプリノソーム形成を介して正常な脳の形成に不可欠であることが明確に示され、結果は妥当であると考えられる。
- 3.4 本論文の独創性・新規性：本論文は、以下の点において独創的である。
 - 3.4.1 プリノソームは概念的に新しく世界的には未開拓な領域であり、正常組織におけるプリノソームの存在、誘導に関しても不明であった。プリノソームを誘導する分子機構の一端を明らかにしたことは本論文の独創的な成果である。
 - 3.4.2 本研究により *Nwd1* の機能解析が世界に先んじて進められた。脳発生におけるプリノソームの重要性を示した初めての研究であり、神経科学研究分野において高いインパクトと新規性がある。
 - 3.4.3 本研究により、他のメタボロンの形成機構解明に向けて手掛かりが得られる可能性がある。*Nwd1* の機能を検証できれば、多くのメタボロン形成に共通する新たな機構が解明できる可能性がある。
 - 3.4.4 プリノソームは腫瘍細胞で豊富に存在するため、プリノソーム形成阻害剤をコンセプトとする新たな抗癌剤開発に結び付く可能性がある。
- 3.5 本論文の学術的意義・社会的意義：本論文は以下の点において学術的・社会的意義がある。
 - 3.5.1 脳の正常な発達には、プリン代謝産物の量の厳密な制御が不可欠であり、実際、ヒトでプリノソームに含まれる酵素の一部が欠損すると先天性のてんかん、小頭症、精神遅滞などの重度な疾患が引き起こされる。従って本研究によりプリノソーム形成機構の理解が進めば、正常な脳形成過程の理解や精神疾患発症の原因解明に繋がると期待され、学術的意義は大きい。
 - 3.5.2 多量なプリン新生が必要な腫瘍細胞の特性を理解する上でも極めて重要な課題である。*Nwd1* がヒトの前立腺癌、子宮頸癌に関与することも示されたことから、

Nwd1 の生体での機能を明確にすることは、癌発症など人の多くの疾患の理解、創薬、治療法の開発にも波及すると考えられ、社会的意義も大きい。

3.6 本論文の人間科学に対する貢献：本論文は、以下の点において、人間科学に対する貢献がある。

3.6.1 プリン代謝異常は精神疾患、痛風、癌などヒトの様々な疾患を引き起こす。

Nwd1 がプリン代謝異常の治療の新標的となる可能性を示した点から、人々の健康増進に資する基礎研究であり、人間科学に対する貢献がある。

3.7 不適切な引用の有無について：本論文について類似度を確認したうえで精査したところ、不適切な引用はないと判断した。

4 学位論文申請要件を満たす業績（予備審査で認められた業績）および本論文の内容（一部を含む）が掲載された主な学術論文・業績は、以下のとおりである。

- ・ Yamada S and Sakakibara S (2018). Expression profile of the STAND protein Nwd1 in the developing and mature mouse central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*. 526:2099-2114.
- ・ Akiyama H, Iwasaki Y, Yamada S, Kamiguchi H, and Sakakibara S (2020). Control of cell migration by the novel protein phosphatase-2A interacting protein inka2. *Cell and Tissue Research*. 380:527-537.
- ・ Yamada S, Sato A and Sakakibara S (2020). Nwd1 regulates neuronal differentiation and migration through purinosome formation in the developing cerebral cortex. *iScience*. 23:101058.
- ・ Yamada S, Sato A, Akiyama H, and Sakakibara S (2021). Drp1 SUMO/deSUMOylation by Senp5 isoforms influences ER tubulation and mitochondrial dynamics to regulate brain development. *iScience* (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103484>)

5 結論

以上に鑑みて、申請者は、博士（人間科学）の学位を授与するに十分値するものと認める。

以上