

論文審査の要旨	
筆頭著者（学位申請者）氏名	那和 雪乃
主論文の題目 および 掲載・審査委員	題 目 Functional Characterization of the Neuron-Restrictive Silencer Element in the Human Tryptophan Hydroxylase 2 Gene Expression (ヒトトリプトファン水酸化酵素 2 遺伝子発現における神経特異的抑制配列の機能解析)
	掲載誌 Journal of Neurochemistry 2017; 142: 827-840
	主査 北岡 康史 副査 遊道 和雄 副査 鈴木 真奈絵
[論文の要旨・価値] トリプトファン水酸化酵素 2 (TPH2) は中枢神経でのセロトニンの生合成に重要である。うつ病患者の背側縫線核において神経特異的抑制因子 (NRSF) の mRNA が上昇しているとの報告がある。本研究では NRSF は神経特異的抑制配列 (NRSE) に結合し、TPH2 プロモーター活性を抑制し、セロトニンの減少につながることを明らかにするために、ヒト TPH2 遺伝子において NRSF による NRSE を介するプロモーター調整機能を解析することを目的とした。セロトニン中枢神経のモデルとしてラット縫線核由来 RN46A 細胞を使用した。ヒト、ラット、マウス TPH2 遺伝子プロモーター領域を pGL4-Basic のルシフェラーゼ遺伝子上流に挿入したレポーターベクターを構築した。いくつかの異なる条件下で TPH2 プロモーター活性を測定した。上述のベクターをトランスフェクションさせてルシフェラーゼアッセイを行った結果、NRSE を変異させると TPH2 プロモーター活性が増大した。ヒト TPH2-NRSE オリゴヌクレオチドプローブを用いたゲルシフトアッセイでは NRSF がヒト TPH2-NRSE に結合することが示された。shRNA を用いて NRSF を抑制、または dominant-negative (dn) で競合させ抑制、または VP64-NRSF 過剰発現で内因性 NRSF を抑制すると、いずれもプロモーター活性は上昇した。またヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害薬でもプロモーター活性は上昇し、特にクラス I 阻害の方がクラス II 阻害より増加させる効果が高かった。さらにユビキチン化酵素 USP7 の阻害剤でもプロモーター活性は上昇した。以上より TPH2 プロモーター活性を上昇させればセロトニン増加につながり、HDAC 阻害の新規抗うつ薬の可能性も示し、また USP7 を介した NRSF の脱ユビキチン化によりプロモーター活性も調整されることを示した価値ある研究である。	
[審査概要] NRSE を変異させる具体的な方法。ヒトのみならずラット、マウス TPH2 の NRSE 変異を構築した理由。NRSF は TPH2 以外で何を調節しているか。ゲルシフト及びスーパーシフトの解釈。dnNRSF と VP64-NRSF の使用の意義。HDAC 阻害は現実性があるか。USP7 阻害の抗うつ薬への可能性はあるか。などについて質問があり、申請者は的確に回答し将来 NRSF のリン酸化酵素同定への意欲も示した。	
最終試験結果の要旨	
[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] プレゼンテーションから研究発表能力は高いと判断でき、質疑応答から自身で多くの部分を実際に研究した成果と確認できた。英語読解力は引用文献の一部を和訳し十分であった。落ち着いた真摯な態度であり、学位授与に値すると判断された。	