

# 博士論文要旨

## 中枢神経系におけるヒアルロン酸結合タンパク質 HYBID の役割に関する研究

吉野 雄太

ヒアルロン酸 (Hyaluronic acid: HA) は *N*-アセチル-D-グルコサミン及び D-グルクロン酸から構成される多糖であり、主に皮膚、次いで硝子体、関節、脳に多く存在し、細胞間の保湿・緩衝作用を担う。HA はその分子サイズによって異なる生理機能を担う。高分子 HA は抗炎症作用、血管新生抑制作用を持つのに対して、低分子 HA は逆の作用を有する。HA の生理機能変化をもたらすと考えられる HA 脱重合過程に関わる因子として、近年、HYBID (hyaluronan-binding protein involved in HA depolymerization/ KIAA1199/ CEMIP) が報告された。HYBID は皮膚及び関節において HA 脱重合過程を担うほか、がん病態に関与するが、脳に関しては発現が確認されているのみで、その機能については不明である。

脳は HA を多く含む臓器であるが、脳内 HA の生理機能や HA 代謝に関する理解は不十分である。主要な HA 分解酵素である HYAL1 及び HYAL2 は脳に殆ど発現しない一方、HYBID は脳に多く発現するため、脳の HA 代謝において HYBID が主要な役割を担う可能性がある。したがって、脳に存在する HA の生理機能を理解する上でも、HYBID の機能解明は医学的意義が大きいと考える。本研究では、脳及び皮膚における HYBID の機能を明らかにすることを目的とした。

### 1. マウスの中枢神経系における HYBID の分布と役割

野生型マウスの海馬及び小脳において *Hybid* mRNA は多く発現していた。行動学的解析の結果、*Hybid* 欠損マウスは物体認知記憶及び空間記憶の障害を示した。HA の性質を調べた結果、*Hybid* 欠損マウスの海馬において、高分子量化した HA が蓄積していた。以上の結果より、HYBID がマウス海馬において主要な HA 分解関連因子であることが示された。

### 2. マウスの海馬神経における HYBID の役割

HA の蓄積は海馬歯状回門領域に特異的であった。さらに、*Hybid* 欠損マウスの歯

状回において、新生神経細胞数及び樹状突起スパイン密度が減少していた。以上の結果より、*Hybid* 欠損マウスの海馬歯状回において、高分子 HA が蓄積し、神経新生及び樹状突起スパイン形成能が障害されることが、記憶障害の原因である可能性が示された。

### 3. ヒト皮膚線維芽細胞の HA 脱重合における HYBID 及び TMEM2 の役割

HYBID について最も盛んに研究されているヒト皮膚線維芽細胞を用いて、近年新規の HA 分解酵素として報告された TMEM2 が HYBID による HA 脱重合過程に関与するか否か検討した。HA 脱重合抑制作用を持つ TGF- $\beta$ 1 により、HYBID 発現量は減少するが、TMEM2 発現量は増加した。また、*HYBID* のノックダウンにより HA 脱重合活性が完全に抑制されたが、*TMEM2* のノックダウンではむしろ亢進した。以上の結果より、TMEM2 は HYBID による HA 脱重合過程に関連しないことが示された。

以上、HYBID は海馬の HA の代謝回転において重要な役割を果たし、HYBID による適正な HA 分子量制御が記憶や学習などの正常な脳機能に必要であることが明らかとなった。HYBID による脳内 HA の分子量制御を標的とした認知機能障害の病態解明または新規治療薬開発が期待される。

#### 【略語】

HYBID : hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization

TMEM2: transmembrane protein 2

TGF- $\beta$ : transforming growth factor- $\beta$

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	吉野 雄太 ( 岐阜県 )
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 第 1 7 5 号
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	中枢神経系におけるヒアルロン酸結合タンパク質 HYBID の役割に関する研究
論文審査委員	( 主査 ) 五十里 彰
	( 副査 ) 臼井 茂之
	( 副査 ) 田中 宏幸

本研究は、ヒアルロン酸 (Hyaluronic acid: HA) の脱重合過程に関わる因子である HYBID (hyaluronan-binding protein involved in HA depolymerization) の中枢神経系における役割を検討したものである。野生型マウスの海馬及び小脳において *Hybid* mRNA は多く発現していた。行動学的解析の結果、*Hybid* 欠損マウスは物体認知記憶及び空間記憶の障害を示した。*Hybid* 欠損マウスの海馬において、高分子量化した HA が蓄積しており、歯状回の新生神経細胞数及び樹状突起スパイン密度が減少していた。これらの結果は HYBID が海馬の HA の代謝に必須であり、正常な認知機能に必要であることを示している。また、HYBID による HA 脱重合過程において酵素的に HA 分解を担う因子として、近年新規の HA 分解酵素として報告された Transmembrane protein 2 (TMEM2) に着目し、HA 脱重合過程に関与するか否か検討した。HA 脱重合抑制条件において、HYBID 発現量は減少するが、TMEM2 発現量は増加した。また、遺伝子ノックダウンの結果から、TMEM2 は HYBID による HA 脱重合活性に必須でないことが明らかになった。以上、本論文は、HYBID による脳内 HA の分子量制御を標的とした認知機能障害の病態解明または新規治療薬開発に寄与することから、博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。