

(様式 3 号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 MARYA AFRIN

〔題名〕

Immunohistochemical Relationship of Huntingtin-Associated Protein 1 with Serotonin in Mouse Brainstem Raphe Nuclei and its Protective Role in Serotonergic System

(マウス縫線核における HAP1 の発現解析およびセロトニン神経系における保護的役割についての検討)

〔要旨〕

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a component of stigmoid body and is well known as the protective interactor of proteins implicated in multiple neurodegenerative disorders (NDs). Brain areas enriched with HAP1 tend to be relatively resistant to neurodegenerative processes whereas areas with little or no HAP1 expression tend to be preferentially vulnerable. This "HAP1 neuroprotectivity" has been proposed to be a major determinant of regional susceptibility of multiple NDs. Additionally, there is mounting evidence that some NDs and neuropsychiatric diseases are caused by malfunctioning of serotonergic (5-HT) neurons. The raphe nuclei, which are the main source of central 5-HT neurons, have not been fully discussed in the context of the HAP1 protection hypothesis. To address this gap, we showed that HAP1 is abundantly expressed in the entire raphe system, whereby nearly 99% of 5-HT neurons in adult mice show strong HAP1 immunoreactivity in the caudal linear raphe, median raphe, dorsal raphe, suprallemniscal raphe, caudal part of the dorsal raphe, pre-pontine raphe, pontine raphe, raphe magnus, raphe obscurus, raphe pallidus, and parapyramidal raphe nuclei of rostral and caudal clusters. This suggests that there could be a close functional relationship between serotonergic signaling and HAP1. The better comprehension of this association was obtained through the generation of HAP1 homozygous knockout (HAP1^{-/-}) pups by CRISPR/Cas9-mediated genome editing. However, it was challenging to render a comprehensive assessment of their functioning in adulthood as they typically died within 24 hours after birth for inexplicable causes. Therefore, in the present study, postnatal day 0 (P0) HAP1^{+/+} and HAP1^{-/-} pups were used to investigate the neurochemical and morphological interaction between HAP1 and 5-HT neurons at an early developmental stage. Almost 98% of 5-HT neurons co-expressed with HAP1 in both raphe clusters of wild pups. Despite the conserved number of 5-HT neurons in P0 knockout, HAP1^{-/-} pups showed a significant decrease in the somatic volume of 5-HT neurons, and profoundly reduced serotonergic fiber varicosities, throughout the raphe nuclei and their major forebrain targets, including the cortex, hippocampus, hypothalamus, and amygdala. Even HAP1 heterozygous pups (HAP1^{+/-}) showed an intermediate loss of varicosities, indicating the possibility of a gene-dependent effect. Accordingly, tryptophan hydroxylase-2, the rate-limiting enzyme for 5-HT synthesis was significantly reduced in HAP1^{-/-} pups. All of these results suggest that HAP1 is a crucial regulator of 5-HT synthesis and neuronal morphology. Therefore, regulation of intracellular trafficking, synaptic varicosity development, and neurochemical stability may be carried out by HAP1 to preserve 5-HT neuronal integrity and raise the threshold of susceptibility to neurodegeneration.

作成要領

1. 要旨は、800字以内で、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

令和 8 年 3 月 2 日

報告番号	医博甲第 1744 号	氏名	AFRIN MARYA
論文審査担当者	主査教授	美津島 大	
	副査教授	松崎 孝	
	副査教授	小西 博之	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Immunohistochemical Relationship of Huntingtin-Associated Protein 1 with Serotonin in Mouse Brainstem Raphe Nuclei and its Protective Role in Serotonergic System (マウス縫線核における HAP1 の発現解析およびセロトニン神経系における保護的役割についての検討) 学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Neuroanatomical mapping of huntingtin-associated protein 1 across the rostral and caudal clusters of mouse raphe nuclei and its immunohistochemical relationships with serotonin. (マウス縫線核の前部および尾部クラスター全体にわたるハンチンチン関連タンパク質 1 の神経解剖学的マッピングとセロトニンとの免疫組織化学的関係) 掲載雑誌名 Frontiers in Neuroanatomy 第 19 巻 1625793. (2025 年 7 月掲載) 著者 (全員を記載) Marya Afrin, Md Nabiul Islam, Mirza Mienur Meher, Mir Rubayet Jahan, Kanako Nozaki, Koh-Hei Masumoto, Akie Yanai, Koh Shinoda (論文審査の要旨) HAP1 (Huntingtin-associated protein 1) はスティグモイドボディの構成要素であり、複数の神経変性疾患関連タンパク質と相互作用する神経保護因子として知られている。HAP1 を高発現する脳領域は神経変性に対して抵抗性を示すことから、HAP1 の発現分布が疾患の領域特異的脆弱性を規定する可能性が提唱されている。しかしながら、HAP1 の脳内における詳細な発現パターンや機能は明らかではない。本研究では、セロトニン神経細胞の起始核である縫線核群に着目し、HAP1 が縫線核全体に高発現すること、さらに、約 99% のセロトニン神経細胞が HAP1 を発現することを明らかにした。次に、HAP1 のセロトニン神経細胞における機能解析のため、HAP1 欠損マウスを CRISPR/Cas9 技術により作製した。HAP1 ホモ欠損マウスは出生後 24 時間以内に死亡したため、生後 0 日に解析を行った。その結果、セロトニン神経細胞の数は保たれていたが、細胞体体積の有意な減少、縫線核および皮質・海馬・視床下部・扁桃体への投射線維の減少、さらにセロトニン合成酵素 tryptophan hydroxylase-2 の発現低下が見られた。HAP1 ヘテロ欠損マウスにおいても中間的な変化が認められた。これらの結果より、HAP1 はセロトニン神経細胞の形態やセロトニン合成を調節し、神経変性に対する感受性を低下させる重要因子である可能性が示唆された。 本研究は、HAP1 の縫線核における発現を詳細に調べたことに加え、縫線核を構成するセロトニン神経細胞の形態およびセロトニン合成への関与を明らかにしたことで、HAP1 分子の機能解明に貢献した。神経変性疾患の新たな治療戦略への発展性も期待される。 以上の結果より、学位論文として価値ある研究であると認められた。			