

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	篠 原 亮 太
論文題目	A role of mDia, a Rho-regulated actin nucleator, in tangential migration of interneuron precursors (抑制性神経前駆細胞の tangential migration における Rho 標的アクチン重合因子 mDia の役割)		
(論文内容の要旨) 脳の発生において、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の前駆細胞は異なる移動様式を示す。前者は radial migration とよばれ、脳室周囲から放射状グリアにガイドされ、脳表面方向に移動し大脳皮質層構造を形成する。後者は tangential migration とよばれ、基底核原基から大脳皮質、海馬および嗅球などへ、radial migration に比べて脳表面と平行により長い距離をより速い速度で移動する。しかし、これらの細胞移動が同様のまたは異なる細胞内メカニズムにより駆動されているかは明らかでない。mDia は Rho により活性化されるアクチン核化・重合因子であり、mDia1、mDia2、mDia3 の 3 つのアイソフォームから成る。脳内では mDia1 と mDia3 が発現しているが、mDia1 および mDia3 単独欠損マウスでは神経系の発生に明らかな異常は認められなかった。そこで mDia1 と mDia3 の機能的重複を疑い、これらの遺伝子をともに欠損するマウスを作成し、神経前駆細胞の移動における役割を調べた。mDia1/3 二重欠損マウスでは radial migration とこれによる大脳皮質興奮性神経細胞の層形成に異常は認められなかったが、大脳皮質および嗅球の抑制性神経細胞の移動が有意に減少していた。神経前駆細胞の移動は、先導突起の伸長、中心体の先導突起方向への移動とそれに引き続く細胞核・細胞体の中心体への移動から構成される。mDia1/3 がこれらのどの過程に関与しているのかを調べるため、側脳室下帯の神経前駆細胞の細胞体を EGFP、中心体を PACT-mKO1 で標識し、これらの動態を in vitro で観察した。mDia1/3 欠損神経前駆細胞では先導突起は正常に形成されるが、中心体の先導突起方向への移動と細胞核・細胞体の中心体への移動の両方が減少していた。mDia の主な働きがアクチン線維の形成であることから、ついでアクチン線維に特異的に結合するプローブ、Lifeact を用いて、神経前駆細胞の移動時のアクチン動態を可視化した。野生型神経前駆細胞では、細胞核前部に集積したアクチン線維が中心体とともに先導突起方向へ移動し、さらに細胞体の移動時には、細胞体後部で一過性のアクチン線維の集積が観察された。一方、mDia1/3 欠損神経前駆細胞では、細胞核前部のアクチン線維は野生型細胞と同様に形成されるが、先導突起方向への移動は起こらず、細胞体後部での一過性のアクチン線維の集積も観察されなかった。次に神経前駆細胞の移動において、Rho の下流でミオシン活性化を担う ROCK がはたらくかを、ROCK 特異的阻害剤 Y-27632 を用いて検討した。ROCK の阻害は中心体の細胞核からの移動に影響を与えなかったが、細胞核の移動を著しく抑制した。以上の結果は、Rho-mDia 経路が ROCK と協調し、アクチン動態の制御を介して tangential migration での細胞移動に重要な役割を担っていること、さらに radial migration での細胞移動にはこのメカニズムは重要でないことを示唆している。			

(論文審査の結果の要旨)

脳の発生過程で興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の前駆細胞は異なる移動様式を示すが、これらの細胞移動が同様のまたは異なる細胞内機構により駆動されるかは明らかでない。本研究ではRho標的アクチン重合因子mDiaの神経前駆細胞の移動における役割をmDia1/3二重欠損マウスで解析した。mDia1/3二重欠損マウスでは、興奮性神経細胞の移動とそれに伴う大脳皮質層形成に異常は無いが、大脳皮質と嗅球の抑制性神経細胞の移動が有意に減少していた。次いで、側脳室下帯を組織培養し神経前駆細胞の移動様式を細胞体と中心体の動きを焦点にin vitroで観察した。これによりmDia1/3は中心体の先導突起方向への移動と、移動した中心体への細胞核・細胞体の移動の両方に関与していることが分かった。このときアクチン動態を可視化したところ、中心体に付随したアクチン線維の先導突起方向への移動と細胞体移動時の細胞体後部での一過的なアクチン線維の集積がmDia依存的に起こることが明らかとなった。最後に神経前駆細胞の移動でRhoの下流でミオシン活性化を担うROCKがはたらくかを、ROCK特異的阻害剤Y-27632を用いて検討した。ROCKの阻害は中心体の細胞核からの移動に影響を与えなかったが、細胞核の移動を抑制した。以上の結果から、Rho-mDia経路はROCKと協調し、アクチン動態を制御して抑制性神経細胞の移動を促進すること、このメカニズムは興奮性神経細胞の移動には重要でないことが分かった。

以上の研究は抑制性神経細胞の移動の分子機構の解明に貢献し、神経発生学に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成24年2月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降