

京都大学	博士 (医学)	氏 名	Thumkeo Dean
論文題目	Deficiency of mDia, an actin nucleator, disrupts integrity of neuroepithelium and causes periventricular dysplasia (アクチン重合因子 mDia の欠損は神経上皮組織の統合性に異常をきたし、脳室周囲異形成を誘発する)		
(論文内容の要旨) 脳は発生過程において外胚葉由来の神経上皮組織より形成される。神経上皮組織を構成する神経上皮細胞は一般的な上皮細胞と同様に apical-basal 極性を持ち、脳室の方向に apical process を投射し、その先端で apical adherens junction (apical AJ) と裏打ち apical actin filament によって相互に繋がっている。近年、神経上皮細胞は発生過程において神経幹細胞として機能することが明らかになり、神経上皮細胞の増殖と分化により、種々の神経細胞及びグリアが作られ、成熟脳での神経ネットワークへと成長していくことが分かっている。また、神経上皮の apical AJ の異常が神経上皮細胞の増殖と分化に影響を与えることが報告されている。例えば、神経上皮の apical AJ を構成する N-Cadherin や $\alpha$ E-catenin を欠損させると、神経上皮細胞の極性異常や腫瘍の形成が報告されている。このことは、apical AJ に局在する蛋白質が神経上皮細胞の神経幹細胞としての性質に重要な貢献をしていることを示唆する。 一方、これまでの研究により低分子量 Rho GTPase は ROCK 及び mDia などの標的分子との結合を介して培養細胞においてアクチン線維を制御することが明らかになっている。とくに mDia は Rho との結合で活性化されることによりアクチン線維の反矢じり端に直接に結合し、アクチン重合促進に寄与する。マウスにおいては3つの mDia アイソフォーム (mDia1, mDia2 及び mDia3) の存在が知られているが、発生時の神経上皮組織でのそれぞれの mDia アイソフォームの発現を <i>in situ</i> hybridization 法で調べた結果、mDia1 と mDia3 が神経上皮細胞で発現していることが分かった。このうち、神経上皮組織における mDia3 蛋白質の局在を免疫染色法で検討した結果、mDia3 は apical AJ を構成する分子群と同様に神経上皮組織の apical surface に強く濃縮していることが明らかになった。これら事実を踏まえ、本研究では神経上皮組織に着目して、mDia の機能解析を行った。 mDia1 または mDia3 それぞれの mDia アイソフォームのノックアウトマウスを作出したところ、いずれも明らかな神経上皮組織の破綻を認めなかった。そのため、mDia1 と mDia3 のダブルノックアウトマウス (mDia1/3 DKO) を作製し、神経上皮組織の表現型解析を行った。その結果、発生初期では、神経上皮組織の apical AJ や apical actin filament が消失している箇所が存在することが分かった。このような異常が認められる箇所と一致して、神経上皮細胞の apical-basal 極性の異常も観察された。さらに、発生が進んだ時期の胚の側脳室、第3脳室、中脳水道、第4脳室及び脊髄中心管で内腔に突出した脳室周囲異形成が散発的に見出された。以上の結果より、中枢神経系において mDia は神経上皮の apical surface に強く濃縮し、apical AJ 及び apical actin filament の維持を行って、神経幹細胞の増殖・分化恒常性に寄与することが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

脳は発生過程において神経上皮組織より形成される。神経上皮組織を構成する神経上皮細胞は apical-basal 極性を持ち、apical 突起の先端で apical adherens junction (apical AJ) と裏打ち apical F-actin によって相互に繋がっている。近年、apical AJ が神経上皮細胞の神経幹細胞としての機能を発現するのに重要な役割を担っていることが明らかになったが、apical AJ 形成・維持の分子メカニズムについては不明な点が多い。

本研究は申請者が神経上皮組織での mDia の機能解析を行った。まずは mDia3 の抗体を作製し、これが apical AJ を構成する分子群と同様に神経上皮組織の apical surface に強く濃縮していることを明らかにした。次いで、mDia3 ノックアウトマウスを作出・解析したが、明らかな神経上皮の異常を認めなかったため、mDia1 との機能重複を疑い、mDia1 と mDia3 のダブルノックアウト (mDia DKO) マウスを作製・解析した。その結果、mDia DKO の神経上皮では apical AJ や apical F-actin が消失している箇所が存在し、このような異常箇所と一致して、神経上皮細胞極性の破綻も観察された。さらに、発生が進むと脳室内に突出した脳室周囲異形成が多発的に誘発されることが分かった。以上の結果より、mDia は神経上皮の apical surface に強く濃縮し、apical AJ 及び apical F-actin の維持を介して神経幹細胞の増殖・分化恒常性に寄与することが明らかとなった。

以上の研究は神経発生における mDia の機能解明に貢献し、細胞生物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あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 12 月 4 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