

氏名	すぎ 杉	むら 村	かおる 薫
学位(専攻分野)	博士(理学)		
学位記番号	理博第3064号		
学位授与の日付	平成18年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻		
学位論文題目	樹状突起のパターンの多様性を支える機構の研究		

論文調査委員 (主査) 教授 大野 陸人 教授 平野 丈夫 教授 阿形 清和

論文内容の要旨

ニューロンは、樹状突起と軸索の二種類の突起を伸長させる。近年、樹状突起のパターン形成を制御する因子は多数同定されてきているものの、どのようにして、様々なニューロンがそれぞれに特徴的な樹状突起を形作るかについては、ほとんど明らかにされていない。ショウジョウバエの胚期に誕生し、胚期後期から幼虫期にかけて樹状突起を発達させる dendritic arborization (da) neuron は、分岐の複雑度の順にクラス I からクラス IV に分類されており、この問題の解析への優れたモデル系を提供する。私はまずクラス I またはクラス IV を標識するトランスジェニック GFP マーカーを作製し、それぞれのクラスについて、樹状突起の形成過程の経時観察を行った。その結果、二つのクラスの最終的な形態の差を説明しうる、細胞体からの出芽、分岐の様式、そして高次の突起の展開能などの樹状突起の発生機構における両者の違いを明らかにすることができた。更に私は、突起間相互作用が樹状突起の発生に果たす役割を、互いに接するがほとんど重複しないクラス IV ニューロンの受容野の形成に特に注目して解析した。その結果、クラス IV ニューロン間で特異的に働く相互作用が、受容野の境界における排他的な突起パターンの形成に必要な十分であることを明らかにし、かつそれが突起どうしが出会ったときに働くことを示す証拠を得た。

次に私は、クラスごとに異なる樹状突起の振る舞いを支える分子機構の解析を行った。クラス特異的に発現する転写調節因子がないかを調べ、Abrupt がクラス I ニューロンでのみ発現することを見いだした。abrupt を本来発現していないクラスのニューロンで異所発現させると、そのニューロンの樹状突起のパターンはクラス I の様に単純になった。また、abrupt を欠損するクラス I ニューロンは、クラス I に特徴的なくし状の突起パターンを乱し、かつ分岐数を増加させていた。以上から、Abrupt がクラス I ニューロンに、それに特徴的な樹状突起の発生様式を与えることが示された。本研究から、これまで全くのブラックボックスであった樹状突起形態の多様性を支える機構の解明への糸口を開くことが出来た。様々なパターンの樹状突起を形作るロジックにさらに迫っていくために、数理科学的手法もあわせて用いており、現在進行中の数理モデル構築の試みについて報告する。

論文審査の結果の要旨

発生過程において一つ一つの細胞があるべき形態を獲得する single cell patterning の観点から、また、神経回路の正しい機能発現に、各種のニューロンが特定の樹状突起のパターンを形成することが必要である点から、どのようにして異なるタイプのニューロンが、各々に特徴的な樹状突起を形成するのかは、それぞれ発生生物学上、そして神経生物学上の重要な問題である。申請者は、樹状突起の多様性を支える機構を細胞レベルと分子レベルで明らかにした。

樹状突起のパターンの多様性を解析するには、形態学的に分類された複数のクラスのニューロンについて、突起の誕生から成熟までを、生体内の構造を保った形でイメージングする必要がある。しかし、ニューロンの分類がなされ、かつ単一細胞レベルで再現性よく特定のタイプのニューロンを、無固定で観察できる系は、これまで樹立されていなかった。申請者は、

ショウジョウバエの dendritic arborization (da) neuron を実験系として用い、ニューロンをクラス選択的に可視化するマーカーの開発及びクラスごとのニューロンの突起の振るまいを追跡し、最終的な形態の差を生み出す細胞レベルの過程を明らかにした。さらに申請者は、突起間相互作用が樹状突起の発生に果たす役割について解析した。突起切断実験の結果から、da neuron の中で最も複雑な形態の樹状突起を形成するクラスIVニューロン間で特異的に働く相互作用が、クラスIVのパターン形成に非常に重要であることがわかった。そして、その細胞間相互作用が突起どうしが出会ったときから働くことを示す証拠を得た。

申請者は、各クラスのニューロンごとに、異なる樹状突起の振るまいを担う分子機構を明らかにすることを目指した。まず申請者は、遺伝子の発現パターンによるスクリーニングの過程で、da neuron の中で最も単純な形態の樹状突起を形成するクラスIニューロンでのみ発現し他のクラスでは発現していない遺伝子として、*abrupt* (*ab*) を分離した。*ab* は BTB ドメインと C₂H₂ 型のジンクフィンガーを持つ転写調節因子をコードする。興味深いことに *ab* を他のクラスのニューロンで異所発現させると、それらはクラスIニューロンのように分岐の複雑度が低く、受容野の狭い樹状突起を発達させた。また、*ab* を発現するクラスIVニューロンは幼虫期には高次の枝をほとんど形成せず、さらに同一のニューロンや隣接するクラスIVニューロンの突起間に抑制性の相互作用が検出されなくなった。従って、*ab* 異所発現によりクラスII-IVの樹状突起の発生様式がクラスI様に転換したことが示された。一方、*ab* 変異体では、クラスIニューロンがクラスIの特徴であるクシ状の突起パターンを乱し、分岐数を増加させていた。そして、それらの樹状突起の異常は、*ab* を da neuron で発現させることによりレスキューされた。以上の結果から、*ab* が細胞自律的にクラスIニューロンにその樹状突起のパターンの特徴を与えていることが示された。

ショウジョウバエの遺伝学的技術を生かしつつ、ニューロンの選択的可視化・経時観察など実験系の確立に成功し、記述比較的研究を地道に行ったことにより、申請者の研究は世界的にも高いレベルに位置するものとなった。以上から、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。