

氏名	三好 悟一
学位(専攻分野)	博士 (生命科学)
学位記番号	生博第19号
学位授与の日付	平成16年5月24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	生命科学研究所高次生命科学専攻
学位論文題目	新規 bHLH 型転写因子 Heslike の同定, および GABAergic ニューロンの発生における役割

論文調査委員 (主査) 教授 稲葉 カヨ 教授 根岸 学 教授 垣塚 彰

論文内容の要旨

多様な細胞群より成り立つ哺乳類の神経系が構築されるには、未分化な細胞が適切な時期、領域において固有の性質を獲得し、順次ネットワークに組み込まれることが必要である。未分化細胞が個性を獲得する過程が、ベーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 型因子をはじめとする転写因子によって制御されることが近年明らかにされてきた。ニューロンの中には興奮性のグルタミン酸産生ニューロンや、抑制性の GABA 産生ニューロンのようなサブタイプが存在するが、これらサブタイプ決定機構の詳細はまだ明らかにされていない。

我々が単離同定した Heslike はリプレッサータイプの bHLH 型転写因子であり、Hes 因子群と相同性の高い bHLH 領域をもつ。Heslike は GABA 産生ニューロンが分化する領域の未分化な細胞に、bHLH 型プロニューラル因子 Mash1 と共に発現する。胎生期9.5日のマウス中脳および間脳後方領域において、Heslike と Mash1 は腹側の狭い領域の未分化細胞において共発現を始める。その後 Mash1 発現領域に Heslike と Mash1 の共発現が背側に向かって拡大し、それに伴い次第に辺縁部に GABA 産生ニューロンが分化する。

Heslike を神経系に特異的に強制発現するトランスジェニックマウスでは、Mash1 発現領域に Heslike を異所性に発現させると GABA 産生ニューロンが異所性に分化した。ところが Mash1 が発現しない領域には Heslike による異所性の GABA 産生ニューロンの分化が見られなかったため、GABA 産生ニューロンのサブタイプ決定には Heslike のみならず Mash1 の活性も必要であると考えられた。そこで Mash1 ミュータントマウスを解析したところ、中脳および間脳後方領域では本来 GABA 産生ニューロンが分化する領域に、別のサブタイプのニューロンが分化していた。in vitro の実験系において神経前駆細胞へ Heslike と Mash1 を共発現させると、各々を個別に発現させたときよりも優位に GABA 産生ニューロンの分化が起こった。

これらのことから、哺乳類神経系の中脳および間脳後方領域における GABA 産生ニューロンのサブタイプ決定には、bHLH 型転写因子 Heslike と Mash1 の活性がともに必要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者は、多様なニューロンのサブタイプ決定の分子機構を明らかにする目的で、発生過程の神経系に発現する新規遺伝子を探索・同定し、その機能解析を行った。この新規遺伝子は、塩基性領域・ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 因子をコードしており、bHLH 型神経分化抑制因子 Hes1 とよく似た構造およびよく似た転写抑制活性をもっていたので、Heslike と名付けた。マウス Heslike の発現は胎生9.5日から中脳および間脳後方領域の神経前駆細胞にみられ、発生の進行と共に発現領域の拡大が認められた。また、Heslike 発現細胞は bHLH 因子の1種である Mash1 も発現しており、これらの細胞から GABA 産生ニューロンが分化することが示された。しかし、Mash1 のみしか発現していない神経前駆細胞からは GABA 産生ニューロン以外のニューロンが分化していた。ところが、この細胞に Heslike を強制発現させると異所生

に GABA 産生ニューロンが形成された。一方, Mash1 欠損マウスの中脳および間脳後方領域では Heslike の発現が認められるにもかかわらず, GABA 産生ニューロンは殆ど形成されず, 他の種類のニューロンが分化していた。これらの結果から, Heslike は Mash1 と共同で中脳および間脳後方領域の GABA 産生ニューロンの分化を決定していることが強く示唆された。そこで, Heslike と Mash1 を終脳由来の神経前駆細胞に強制発現させたところ, GABA 産生ニューロンの形成が促進された。したがって, 中脳および間脳後方領域において, Heslike と Mash1 は共同で GABA 産生ニューロンの分化を促進することが明らかとなった。それぞれ単独では GABA 産生ニューロンは形成されないで, Heslike と Mash1 がヘテロダイマーをつくることによって新たな機能を獲得する可能性が考えられた。これらの結果は, 異なる bHLH 因子の組み合わせによって新たなサブタイプのニューロンが生み出されることを示し, ニューロンの多様性形成の分子機構を明らかにしたものである。

以上の結果は, 転写因子によるニューロンの形成機構の解明に貢献し, 神経発生学の発展に寄与するところが大きい。したがって, 本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認められる。なお, 本学位授与申請は平成16年4月13日に論文内容とそれに関連した口頭試問を受け, 合格と認められた。