

| | |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名 | い さ か ふ み あ き 井 坂 文 章 |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2502 号 |
| 学位授与の日付 | 平 成 14 年 3 月 25 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 | 医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻 |
| 学位論文題目 | Ectopic expression of the bHLH gene Math1 disturbs neural development (bHLH gene Math1 の異所性発現は神経分化を阻害する) |
| 論文調査委員 | (主 査) 教 授 笹 井 芳 樹 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 橋 本 信 夫 |

論 文 内 容 の 要 旨

Math1 は神経分化を正に制御する basic helix-loop-helix 型転写因子でショウジョウバエのプロニューラル遺伝子である Atonal の哺乳動物の相同遺伝子である。その発現の時間空間的分布はマウス胎生期9.5日以降の菱形脳から脊髄までのレベルで神経管の背側に、そして更に翼板に特異的に発現し、発生後期には小脳の外顆粒層に発現し、その分化とともに神経系での発現はなくなる。この Math1 の神経発生上の機能を明らかにする目的でトランスジェニックマウスを作成、Math1 を過剰に、または異所性に発現させた。即ち、ネスチンプロモーター下に cre を発現する系統とサイトメガロウイルスプロモーター下に Math1 と lacZ を発現するが、その転写は loxP サイトに挟まれたストップカセットによって阻害されており、cre 蛋白の存在下でのみ Math1 と lacZ が発現するような系統を作成、この2系統を交配させることにより神経系全体の神経前駆細胞 Math1 が発現するよう企図した。まずこの2系統のトランスジーンが細胞レベルで機能することを確認した後、この2系統を交配させた。その結果、二つのトランスジーンを有する胎児は終脳が小さく、中脳が大きく変形するという形態異常を示した。このような形態異常は independent に作成した同系統間でも同様に認められた。この形態異常をさらに詳しく検討するために組織を調べたところ、終脳、脊髄などの中枢神経系に多くの異常細胞のクラスターが観察され、これらの細胞は凝集しており細胞死を起こしていることが示唆された。これらを TUNEL 法で調べた結果、アポトーシスを起こしていることが確認され、これらは主に未分化の神経細胞の局在する脳室周囲層の外側境界部に多く認められた。この結果は Math1 が神経前駆細胞で異所性に発現した場合、細胞死を引き起こすことを示している。Atonal は神経の細胞運命を決定する因子であるばかりでなくそのサブタイプの決定にも関与していることが知られており、その相同遺伝子である Math1 も同様であると考えられている。また Math1 はもはや分化を終えた細胞には発現していないため、こういった正常とは異なる時間空間的な発現を惹起させた場合、正常の神経分化を維持することができず、細胞死を起こすものと考えられた。本研究により正常の神経分化を維持するためには Math1 の発現が転写レベルで正確にコントロールされる必要があるということを明らかにすることができた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Math1 (Mammalian Atonal Homolog 1) は神経分化を制御する basic helix-loop-helix 型転写因子でショウジョウバエの proneural 遺伝子である atonal の哺乳動物相同遺伝子である、Math1 は神経管背側及び小脳の外顆粒細胞層に主に発現しているが、この遺伝子の神経発生上の機能を明らかにする目的でこれを異所性に発現させるべく transgenic mouse を作成した。結果、このマウスの胎児は終脳が小さく中脳が大きくなるという形態異常を示した、この形態異常を詳しく検討したところ、終脳、脊髄などの中枢神経系に多くの異常細胞のクラスターが観察され、更に、これらの細胞は凝集しており細胞死を起こしていることが示唆された、これらを TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling) 法で調べた結果、アポトーシスを起こしていることが確認された。この結果より Math1 を異所性に発

現させた場合、正常の神経分化を維持することができず、細胞死を起こすものと考えられた。本研究により、正常の神経分化を維持するためには Math1 の発現が転写レベルで正確にコントロールされる必要があるということを明らかにすることができた。

以上の研究は中枢神経系における bHLH 型転写因子の役割を明らかにしており、複雑な神経分化機構の解明に寄与するところが大きい。

従って、本論支は博士（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14年2月26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。