

氏 名	かわ 川 うち 内 たけ 健 し 史
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2745 号
学位授与の日付	平 成 16 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	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	The <i>in vivo</i> roles of STEF/Tiam1, Rac1 and JNK in cortical neuronal migration (大脳皮質形成過程の神経細胞移動における STEF/Tiam1, Rac1, JNK の役割)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 金 子 武 嗣 教 授 鍋 島 陽 一

論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類の大脳皮質を構成する神経細胞は脳室層で誕生した後、皮質板の特定の位置まで移動し、投射先の異なる6層構造を形成する。層構造の異常はてんかんや精神遅延を引き起こすことから、神経細胞移動は大脳が正しく機能するために必須であると考えられているが、この過程を制御する分子機構は未解明な部分が多い。申請者は子宮内エレクトロポレーション法を用いて胎生14日目マウスの脳室帯の細胞に様々な分子のドミナントネガティブ体を発現するプラスミドを導入し、その影響を解析することにより、神経細胞移動を制御する分子機構の解明を目指した。まず、胎生15日目の大脳皮質に対する免疫組織染色により、Rac1の活性化因子STEFおよびTiam1が移動神経細胞に強く発現していることを明らかにした。そこで、STEF/Tiam1およびRac1に対するドミナントネガティブ体(DN-STEF/Tiam1・DN-Rac1)を発生過程の大脳皮質細胞に導入したところ、いずれも導入細胞の増殖・神経分化には影響を与えなかったが、神経細胞移動を強く阻害することが観察された。また、DN-Rac1発現細胞では活性化型JNKが顕著に減少していたことから、移動神経細胞においてRac1がJNKを活性化していることが示唆された。次にドミナントネガティブ体もしくは阻害剤を用いてJNKの機能を抑制する実験を行い、JNKも神経細胞移動に関与することを明らかにした。DN-Rac1発現細胞は先導突起を形成することができず、丸い形態をとっていたのに対して、DN-JNK発現細胞は、その形態は異常ながらも先導突起を形成していた。これらの結果から、Rac1はJNK非依存的に先導突起の形成に関与すること、また、JNKを活性化することによって先導突起の形態を適切に保つ働きがあること、これらの機能を通して神経細胞移動を制御していることが示唆された。さらに、大脳皮質の初代培養系にJNK阻害剤を加える実験などから、JNKはMAP1Bのリン酸化を介して微小管のダイナミクスを制御することにより先導突起の形態や機能を適切に保っているという可能性が示唆された。神経細胞移動は先導突起の形成と細胞体の移動という二つの段階に分けられるが、特に前者に関与する分子はまったく分かっておらず、本研究によって神経細胞移動における先導突起形成を制御する分子カスケードが初めて明らかになったと考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請論文は、子宮内エレクトロポレーション法を用いて、大脳皮質形成における神経細胞移動を制御する分子機構の一端を明らかにした論文である。神経細胞移動は大脳が正しく機能するために必須の発生段階であるが、*in vitro* のよいアッセイ系がない、遺伝子改変マウスは作製に多大な時間と労力がかかる、などの理由から、その分子機構は未解明の部分が多かった。これらの問題点を克服するために、申請者は、特定の発生時期のマウス胚の脳に簡便かつ効率よく遺伝子導入を行うことができる「子宮内エレクトロポレーション法」を独自に確立した。この方法を用いることにより、低分子量G蛋白質のRac1とその活性化因子STEF/Tiam1、そしてRac1の下流分子であるJNKが神経細胞移動に関与することを明かにした。また、Rac1はJNK依存的経路とJNK非依存的経路の両方を介して先導突起を形成することも示唆された。さらに申請者は核へのシグナルを伝えられると考えられてきたJNKがMAP1Bのリン酸化を介して突起における微小管の形態や安定性を制御

しているという、まったく新しいシグナル経路も明らかにした。これらの結果より、STEF/Tiam1・Rac1・JNKは、微小管の動態の制御などを通して適切な先導突起の形成を行い、神経細胞移動を制御していることが示された。以上の研究は大脳皮質形成における神経細胞移動を制御する新たな分子カスケードの解明に貢献し、大脳の形成異常により引き起こされる精神・神経疾患の原因解明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られる。

なお、本学位授与申請者は、平成16年2月23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。