

氏 名	ひろ せ ゆき ひろ 廣 瀬 行 洋
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2832 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	メダカ中枢神経系組織の領域形成にともなう個々の細胞の変化

(主 査)
論文調査委員 教 授 大 野 睦 人 教 授 上 村 匡 教 授 平 野 丈 夫

論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物の中枢神経系は、終脳、間脳、中脳、菱脳、脊髄という個々の神経領域から構成されている。この神経領域が形成される過程において、胚の個々の細胞がどのように変化するかを明らかにするために、メダカ胚の細胞の動きを原腸陥入期から体節期まで解析した。

細胞の標識は、原腸形成期が始まった直後の st.13 (受精後13時間)において、胚上の細胞を一つずつ、蛍光色素で標識した。その細胞と子孫細胞の位置を連続してステージ24 (44時間)まで連続して記録した。連続観測の結果、最終的に神経組織の各領域に分布した細胞は、時間を逆行して、それ以前に胚のどの位置にいたのかを知ることができる。標識した直後の st.13では、全ての将来神経組織になった細胞は、胚の背側部分にある 140° の扇形をした領域にあった。各神経領域になった細胞はこの扇状領域の中のほぼ同じ領域にあった。

その後、胚上の全ての細胞は、植物極方向へと移動したが、st.15から st.16にかけての間に、将来神経組織になった細胞は背側中心線方向へと集中していった。st.16+になった直後、これらの細胞は明確に分離した細胞群を形成し、それらは“コンパートメント”の特徴を持っていた。この事は形態的に神経領域の形成が確認できる体節期よりも以前に、神経領域が形成されていたことを示している。

また、将来網膜になった細胞は、st.16+になった直後、終脳と間脳になった細胞群の上に覆い被さる位置に、単一の細胞群として形成された。St.17以降、間脳予定細胞群が前側、背側の両方へと移動するにともない、網膜予定細胞群は、後方から左右に分れていった。

網膜と間脳のコンパートメントが形成された st.16+の時点で、pax6の発現は始めて確認することが出来たが、網膜予定細胞群の内、中心線部分を除いた側方の一部でしか発現していなかった。またこの時期、間脳では全く発現が見られなかった。このことから、現在考えられている、網膜と間脳領域の形成における pax6 の働きに関して、もう一度修正を行う必要があるのかもしれない。

この様に、標識細胞の位置を連続して記録し、それらをコンピュータグラフィックスで作成した三次元モデル胚を用いて解析することは、今回の報告で始めて示されたことであり、胚の発生にともなう細胞がどのように移動するかと言った過程を解析する上で非常に有効であると考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

個体の発生過程において、一つの受精卵から、その後、様々な器官や組織が身体の適当な位置に特定の形態をもって形成されていく。この過程において、胚上の個々の細胞がどのように移動、増殖、そして集団を作っていくのかと言うことは、非常に基本的かつ重要な問題である。この問題に関し、申請者は、メダカの中枢神経系組織の個々の神経領域の形成過程に注目し、胚上の個々の細胞がどのように移動、増殖、そして集団を作っていくのかを明確に示した。

メダカ成魚の中枢神経系組織は、他の脊椎動物同様に、形態的・機能的に異なる個々の神経領域に分かれている。申請者は、その形成段階の非常に早い時期において、胚上の個々の細胞を色素で標識し、その後、発生にともない変化する細胞の位置を全てコンピュータモデル胚上へと記録した。そして、この記録を総合して解析した結果、神経組織の個々の領域は、形態的な区分が現れるよりも遙か以前の、非常に早い段階から形成されており、境界を持った個々の細胞群として存在していたことが明らかとなった。この様に、非常に早い段階から既に領域が形成されており、形成された細胞群がハエで示されていたコンパートメントの特徴を持っていた事は、脊椎動物において始めて示された。

また申請者は、これまで胚全体で起こると考えられていた、原腸陥入期から体節期にかけての、細胞の中心線方向の集中と前後軸方向の伸長に関して解析を行った。その結果、メダカでは、中心線方向への集中が主に神経組織になった細胞に限られ、また前後方向の伸長に関しては菱脳と脊髄になった細胞群においてのみ起こっていたことを明らかにした。

更に申請者は、左右に分かれた網膜の形成に関し、最初、将来網膜になった細胞は単一の細胞群として形成され、予定間脳細胞よりも表層部分に位置していたことを明らかにした。そして、この網膜細胞群が、後方から左右に分かれて移動していく様子を示した。この事は、左右に分かれた網膜がどの様に出来上がるのかを明確に示した初めての結果である。

申請者の研究によって、網膜と間脳の領域形成に重要な因子と考えられてきた *pax6* の発現が、網膜と間脳の領域化が起こった時期よりも、遅れて始まることが明らかとなった。このことは、*pax6* が網膜と間脳の領域形成そのものには関わっていないことを示している。そのため、*pax6* の機能に関してもう一度検討し直す必要があると考えられる。この様に、申請者の行った解析は、遺伝子の機能を考える上でも、非常に有効である。

これらの解析を行うために開発された一連の解析手法は、器官形成に伴う細胞の変化を解析する上で非常に有効であると考えられ、今後、他の器官形成の解析に関しても、有用なツールになると期待される。

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試問の結果合格と認めた。