

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	山 田 真 弓
論文題目	Origin of Climbing Fiber Neurons and Their Developmental Dependence on <i>Ptf1a</i> (登上線維神経細胞の発生における <i>Ptf1a</i> の役割)		
(論文内容の要旨)			
中枢神経系には形質の異なる多様な神経細胞が存在しているが、それぞれの神経細胞がいかにして多様性を獲得するのかは未解明の部分が多い。最近、小脳において、抑制性、興奮性神経細胞は、それぞれ異なる神経上皮で発現する2種類の bHLH 型転写因子 <i>Ptf1a</i> と <i>Atoh1</i> によって分別して生み出されるということが分かってきた。これらの転写因子は小脳以外のいくつかの神経上皮でも発現が認められるので、他の脳領域における <i>Ptf1a</i> の役割を明らかにすることによって、小脳で一部明らかにされた転写因子による神経細胞の多様性獲得機構が、他の脳領域にも適用できる普遍性を持っているのかについて検証することを本研究の目的とした。 <i>Ptf1a</i> の遺伝子座へ Cre リコンビナーゼ遺伝子をノックインしたマウスをレポーターマウス (<i>ROSA26-loxP-lacZ</i>) と交配することによって、<i>Ptf1a</i> を発現する神経上皮から生み出される神経細胞が <i>lacZ</i> 遺伝子の発現によって標識できる。この遺伝的リニエージトレース法を用いることによって、<i>Ptf1a</i> を発現する神経上皮領域から生み出される神経細胞の詳細な全脳的 fate map を作成した。β-gal 陽性細胞は、視床下部、蝸牛神経核、前庭神経核、弧束核、三叉神経脊髄路核、下オリーブ核等で観察された。この結果と、すでに報告されていた <i>Atoh1</i> 由来の神経細胞の fate map とを考え合わせると、小脳以外の脳領域でも <i>Ptf1a</i> や <i>Atoh1</i> という異なる種類の bHLH 型転写因子を発現する神経上皮からはそれぞれ異なる形質を持った神経細胞が生み出されているということが分かった。これは、小脳と同様に、小脳以外の領域でも異なる種類の bHLH 型転写因子が神経細胞に多様性を与えることに関与しているのではないかと示唆していた。 次に、特に後脳発生に着目し研究を行った。後脳神経管においては、<i>Ptf1a</i> は中央からやや背側よりの神経上皮で発現していることが分かった。その発現領域は、既知の <i>Atoh1</i>, <i>Ngn1</i> などの転写因子を発現する領域とオーバーラップしないので後脳神経管には異なる転写因子によって規定されるドメイン構造があることが示唆された。発生過程において、上述と同様に遺伝的リニエージトレース観察を行い、下オリーブ核の登上線維神経細胞が尾側後脳の <i>Ptf1a</i> 神経上皮ドメインから生み出されることを明らかにした。下オリーブ核の発生起源についてはこれまで良く分かっていなかったが、本研究で初めて明らかにされた。次に、<i>Ptf1a</i> のヌル変異体を観察したところ、下オリーブ核が全く形成されていなかった。<i>Ptf1a</i> の発現を失っても神経上皮の増殖、神経細胞の産生には影響がなかった。しかし、さらに解析を進めることによって、<i>Ptf1a</i> ヌル変異体では、<i>Ptf1a</i> 神経上皮ドメインから生み出される神経細胞が適切に登上線維神経細胞へと分化できず、腹側への細胞移動が途中で停止し、アポトーシスする細胞数が増加していることが分かった。以上の結果から、<i>Ptf1a</i> が登			

上線維神経細胞の分化、移動、生存に必須の役割を果たしていることが明らかになった。さらに、 <i>Ptf1a</i> ヌル変異体において、橋核、外楔状束核において異所性にβ-gal陽性細胞が見られた。これらの細胞は苔状線維神経細胞へと運命転換していることが分かり、 <i>Ptf1a</i> は細胞運命決定にも重要な役割を果たしていることが示唆された。
以上の研究成果から、後脳においてもPtflaやAtoh1という異なる種類のbHLH型転写因子が神経細胞の多様性獲得に関与しているということが示唆された。
（論文審査の結果の要旨）
中枢神経系において神経細胞がいかにして多様性を獲得するのかは未解明の部分が多い。小脳では、抑制性、興奮性神経細胞は、それぞれ異なる神経上皮で発現する異なる種類のbHLH型転写因子PtflaとAtoh1によって分別して生み出される。本研究では、後脳背側全体にわたり一連のPtflaやAtoh1を発現する神経上皮ドメインが存在することを初めて明らかにした。また、尾側後脳のAtoh1ドメインからは苔状線維神経細胞が生み出される。次に、 <i>Ptf1a</i> のヌル変異体を観察したところ、下オリーブ核が全く形成されていなかった。さらに、 <i>Ptf1a</i> ヌル変異体では、Ptflaドメインから生み出される神経細胞が登上線維神経細胞へと分化できず、腹側への細胞移動が途中で停止し、アポトーシスする細胞数が増加していることが分かった。以上の結果から、 <i>Ptf1a</i> が登上線維神経細胞の分化、移動、生存に必要なことが明らかになった。また、 <i>Ptf1a</i> ヌル変異体において、Ptflaドメイン由来の一部の細胞が苔状線維神経細胞へと運命転換していることが分かり、 <i>Ptf1a</i> は細胞運命決定にも重要な役割を果たしていることが示唆された。
以上の研究成果から、後脳においてもPtflaやAtoh1が神経細胞の多様性獲得に関与していることが示唆された。
以上の研究は登上線維神経細胞の起源の発見に貢献し、さらに神経細胞の多様性獲得のメカニズムの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る。
なお、本学位授与申請者は、平成 22年 1月 28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。