

## 論文審査の結果の要旨

氏名 瀧澤 一永

本論文はショウジョウバエ中枢神経系におけるグリア細胞の分化と役割について、主として分子生物学的手法と細胞生物学の手法を駆使して解析したものである。本文は2章からなり、第1章は、グリア細胞の分化、第2章は、神経経路形成におけるグリア細胞の役割について述べられている。

著者らは、神経系の分化に働く遺伝子を同定することを目的として、P因子の導入による突然変異体を作成し、神経系の形成に異常を持つ系統gcmを確立した。gcm遺伝子は神経グリアの分化スイッチとして機能し、グリア細胞の分化についての初めての分子生物学的知見をもたらした。しかし、グリア細胞が、どのような機構で分化し、グリア細胞として機能するようになるのかということについては、ほとんどわかっていなかった。第1章では、著者らは、どのような遺伝子のはたらきによって、グリア細胞の分化が進み、逆に神経細胞としての分化が抑制されるのかということを知るために、グリア細胞で発現することが知られている遺伝子の突然変異体 (pros、repo、pnt、ttk、の各突然変異体) でグリア細胞の形態を解析した。これらの突然変異体では、グリア細胞の細胞分裂は正常だが、移動や形態形成には異常があることを明らかにした。次に、これらの遺伝子とgcmとの関係を調べた。抗体染色やin situハイブリダイゼーション法を用いてgcmにおけるグリア細胞特異的なマーカーの発現を調べ、これらのグリア細胞特異的遺伝子の発現はgcm突然変異体で消失するかまたは、gcmの強制発現によって誘導されることを示した。神経細胞への分化に関しては、gcmの強制発現によって神経細胞特異的マーカーのelavの発現は減少することがわかったが、この表現型は、gcmがttkを制御することにより、elavの発現がなくなり神経細胞への分化が抑制されることによって起こることを遺伝学的解析から明らかにした。pntとttkの各突然変異体では、隣接する神経軸索上の22C10抗原の発現が著しく弱くなることが知られている。gcm突然変異体でも同様の表現型が観察されたため、これら3つの遺伝子の関係を調べた。その結果、pntとttkとは遺伝学的に並列で、22C10抗原の誘導では、これら2つの遺伝子がgcmの下流に位置し、少なくとも2つの異なる経路があることを明らかにした。

神経細胞が軸索を送り「神経回路」を作る一方で、グリア細胞は、細胞特異的な運動を行い、特定の場所まで移動し、グリア細胞を特異的な細胞体を展開して、神経系を補佐する役割をもつ。グリア細胞の持つこのような性質から、グリア細胞が神経軸索の走行に役割をもつことが示唆されている。しかし、グリア細胞が軸索走行にどのような役割を担っているのか明確に証明した例は少ない。第2章で著者らは、gcm突然変異体を用いて軸索走行を解析することによって、軸索走行におけるグリア細胞の役割を明らかにできると考え、gcm突然変異体を用いて、免疫組織化学的手法により、軸索走行やグリア細胞の挙

動、軸索の標的認識を解析し、以下の結論を得た。パイオニアニューロンの軸索を特異的に染め出す抗 Fas II 抗体 (MAb 1D4)、22C10抗体を用いて解析した結果、パイオニアニューロンは、グリア細胞がない状態でも正しい方向に軸索を伸ばす。グリア細胞の運動と、軸索走行との関連を調べるために、抗Fas II抗体、22C10抗体、と抗Repo抗体を用いて解析した結果、グリア細胞は、移動して、軸索束に会合するが、グリア細胞に異常があっても、パイオニアニューロンの軸索走行に異常があっても会合が異常となることから、会合は神経軸索とグリア細胞の相互依存的である。フォロアーニューロンの軸索走行に関して、グリア細胞がないとフォロアーニューロンは正しい軸索伸長ができなくなり、最終的に、軸索束が欠損したり、誤った方向に軸索束が伸長されることと、グリア細胞が異常な位置にあると軸索走行は異常になることから、グリア細胞は、フォロアーニューロンの正しい軸索伸長に必要であることが明らかとなった。運動ニューロンはグリア細胞が存在しない状態では、軸索走行がみだれるが、それにもかかわらず標的認識は正しく行える。これらのことから、神経回路は、グリア細胞非依存的なパイオニアニューロンの軸索伸長、グリア細胞の会合、グリア細胞依存的なフォロアーニューロンの軸索伸長、グリア細胞非依存的な標的認識の順に形成されることを明らかにした。

なお、本論文は、堀田凱樹、細谷俊彦との共同研究となっているが論文提出者が主体となって解析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。