

審査の結果の要旨

氏名 鹿毛 枝里子

多くの動物において、感覚情報の処理・統合には中枢神経系の介在ニューロンが重要な役割を果たす。昆虫では、脳のキノコ体が感覚情報処理に重要であるとされている。当研究室ではこれまでに、セイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) の脳でキノコ体選択的に発現する転写因子 Mblk-1 を同定している。Mblk-1 ホモログは、線虫からヒトに至るまで広く存在しているが、いずれの動物種においてもその神経系における機能は不明であった。本論文は、最もシンプルな神経系をもつモデル動物である線虫 *C.elegans* を用いて Mblk-1 のホモログ *mbr-1* を同定し、遺伝学的手法により、*mbr-1* の機能解析を行なった結果を報告している。

まず *mbr-1* の発現部位を調べるため、*mbr-1* の 5' 上流約 5kbp の下流に GFP 遺伝子を繋いだベクター (*mbr-1p::gfp*) を作製し、線虫野生株にマイクロインジェクションすることで、形質転換株を得た。微分干渉顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察を行った結果、主に頭部神経節(神経環)の介在ニューロン AIM, RIC, AIN, RIH (または RIR), RIP, RIF (または RIG) において GFP 由来の蛍光が検出された。このことは、*mbr-1* が介在ニューロン選択的に発現し、これらのニューロンの分化あるいは機能維持に働く可能性を示唆している。

次に MBR-1 の機能を明らかにするため、*mbr-1* 欠損変異体を単離した。得られた変異体のゲノムの塩基配列を解析した結果、転写開始部位から上流約 600bp と開始コドンを含む、2278bp からなる領域が欠損していることが分かった。*mbr-1* ホモ欠損変異体は、見た目は正常であり子孫も残すことから、MBR-1 は線虫の発生や生存、生殖には必須ではないと考えられる。

線虫では、本来好むはずの匂い物質の水溶液に予め短時間曝されると、その匂いへの走性が低下したり、逆に忌避するようになるという、嗅覚行動の可塑性を示すことが知られている。*mbr-1* 欠損変異株について調べた所、誘引性匂い物質のひとつである benzaldehyde に対する走性の可塑性に欠陥をもつことが分かった。Benzaldehyde に対する感受性や走性は正常であることから、この欠陥は走性を変化させる機構の異常によるものと考えられる。この表現型は、*mbr-1* 欠損変異体に野生型 *mbr-1* を導入することにより、部分的にはあるがレスキューされた。以上の結果から、MBR-1 が benzaldehyde に対する走性の可塑性に関与することが示された

次に MBR-1 が神経回路形成に関わるか調べる目的で、*mbr-1* 欠損変異体に *mbr-1p::gfp* を導入して *mbr-1* 発現ニューロンを可視化し、軸索形態や神経接続の様子を観察した。その結果、*mbr-1* 欠損変異体の成虫では左右の AIM 介在ニューロンから野生型では見ら

れない突起が伸び、腹部正中線をこえて互いに連結していることが分かった。この表現型は野生型 *mbr-1* の導入によりレスキューされた。*mbr-1* 欠損変異体について成長過程を追って調べてみると、幼虫期(L1期)から成虫になるまで、ほぼ一定の割合(30%~50%)で AIM 間に軸索の連結が見られた。一方、野生型の線虫でも、L1期の幼虫においては約40%の個体で連結が観察され、これが成虫になるまでに消失することが明らかとなった。

以上の結果は、線虫において、幼虫から成虫になる過程で不必要な軸索やその接続を解消する機構が存在すること、また MBR-1 がその機構に関与することを強く示唆している。哺乳類やショウジョウバエにおいては、発生初期には必要以上の軸索誘導が起き、その後、不要な軸索が収縮や崩壊により消失するという pruning 機構が知られているが、線虫においては報告されていなかった。線虫の AIM ニューロンの軸索形態の変化は、pruning 機構を解析するための有用なモデルになる可能性がある。

以上、本研究では、線虫の MBR-1 が嗅覚行動の可塑性や神経経路形成に関与することを示し、全ての動物種を通じて Mblk-1 ホモログの神経系における機能を初めて明らかにした。今後、MBR-1/Mblk-1 の解析を通じて、線虫やミツバチのみならず動物一般における感覚刺激に対する行動や、その可塑性を成立させるための神経回路、分子的基盤の理解が進むものと期待される。本研究は、神経生物学や行動生物学の分野に寄与する点があり、博士(薬学)の学位に値すると判断した。