

審査結果の要旨

梅津 大輝

私たちは視覚情報に多くを依存して外界を認識している。目の網膜には視細胞が2次元的に配列しその一つ一つが対象の映像の一部の光を受像している。従ってその情報を受け取る脳では視細胞の2次元の配列を正確に読み取る必要がある。そのために視細胞の配列を反映するように視神経は脳に投射し、この用を満たしている。このように視神経の配列を脳への神経結合に於いて反映させる仕組みを retinotopy あるいは retinotopic mapping とよぶ。このメカニズムを理解することは脳の神経回路の形成を理解するための良いモデルとなる。本論文は、ショウジョウバエの retinotopy を支えるメカニズムの一端を発見したことを述べている。

ショウジョウバエの視神経は脳の視覚中枢であるラミナ神経節に投射し、ここでラミナ神経とシナプスを形成する。本論文において、梅津大輝は視神経軸索 (R axon) とラミナ神経の細胞間相互作用を発見し、その過程に関わる因子の同定と、変異体を用いた機能解析、特にシナプス後神経細胞の寄与についての新たな知見が述べられている。

ラミナ神経節は R axon とラミナ神経細胞とからなるラミナカラムとよばれる構成単位をもとに形成され、それが retinotopy の基礎となっている。ラミナ神経細胞の分化は新たに投射してくる R axon によって誘導されることが知られていたが、ラミナカラムの形成過程について詳細な分子発生的な研究がなされた例はなかった。梅津大輝はラミナカラムの形成過程の分子メカニズムを解明するために、この過程におけるヘッジホッグ (Hh) シグナルの必要性を検討した。Hh シグナルの必須構成因子の一つである *smoothened* (*smo*) の変異をホモに持つ体細胞クローンを脳に特異的に誘導することによってクローンの生じ方を詳細に解析した。その結果、*smo* の変異細胞はラミナカラムへ取り込まれないことを見出し、ラミナ神経細胞がラミナカラムに配置するためには Hh シグナルが必要であることを示した。

Hh シグナルの制御の下でラミナ神経細胞のラミナカラムへの取り込みに機能している因子を同定するために、エンハンサートラップシステムのスクリーニングを行い、basic-Helix-loop-helix-PAS (bHLH-PAS) 型の転写因子をコードする *single-minded* (*sim*) の遺伝子産物がラミナ神経細胞に特異的な発現を制御し

ていることを見出した。*smo*のクローンで*Sim*の発現を調べ、クローンで細胞自律的に*Sim*の発現が消失していることを明らかにし、*Sim*がR axonからのHhによって発現が制御されていることを示した。

*sim*のクローン解析と*sim*の生存可能な変異体の表現型の解析とから、*sim*もHhシグナルと同様にラミナカラムの形成に機能していることを明確に示した。また、*sim*のクローンはラミナ神経細胞の分化マーカーである*Dac*を発現していることから、細胞の増殖と神経分化への最初のステップには異常がないことを確かめており、*sim*がラミナカラムの形成に特異的に機能していることを明らかにした。

*sim*をラミナ神経細胞に過剰発現することにより、ラミナ神経細胞が早発的にラミナカラムに取込まれていることを示し、*sim*はラミナカラム形成の最初のステップに機能していること、R axonとの相互作用に必要な遺伝子セットの発現を制御している可能性を示唆した。電子顕微鏡による観察からラミナカラム形成の鍵とも考えられるR axonとラミナ神経細胞間の特徴的な相互作用が以前に報告されていたが、梅津は共焦点顕微鏡による観察によっても同様の観察結果が得られることを示した。さらに、同様の手法により、*sim*の変異体においてもラミナ神経細胞を一細胞レベルで観察し、野生型で見られたラミナ神経細胞とR axonとの相互作用がほとんど見られないことを示した。

本論文ではショウジョウバエのラミナカラムの形成にHhシグナルが必須であること、Hhシグナルによって発現が制御されるbHLH-PAS型の転写因子*Sim*がラミナ神経細胞のR axonとの相互作用に特異的に機能し、その相互作用はラミナカラムを形成するのに必須であることを示している。このことは同時に、神経節形成には伸長してきた軸索とシナプス後神経細胞の細胞体との相互作用が必要であることを新たに示している。さらに、その過程に重要であると考えられるラミナ神経細胞のふるまいに関する示唆的なデータを提示し、論じている。

理論、実験の組み立ては十分高い水準にあり、得られた実験結果は、神経回路形成機構の解明に資するところが大きい。なお、本論文は村上智史氏、佐藤純博士、多羽田哲也博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本研究は博士（理学）の学位に値するものと考ええる。