

## 審査の結果の要旨

氏名 吉松 剛志

本論文では、マウスの発生において脳がどのように構築されるか、特に神経系前駆細胞がニューロンやグリア細胞を正常な数だけ産生するメカニズムについて、さらには脳発生における死細胞の貪食メカニズムについて解析を行っていた。

脳は、初期胚の神経板から形成される。脳室帯と呼ばれる内腔側の分裂能を持った層において神経系前駆細胞は存在する。神経系前駆細胞は、未分化性を維持したまま増殖し、ニューロンとグリアを含む数種の分化細胞を生み出す多分化能を有する細胞である。脳という組織が機能するためには、各部位においてニューロンやグリアが適正な数生み出されることが重要である。そのためには、神経系前駆細胞がどの程度未分化性を維持したまま増殖し、その数を増やすかが厳密に制御されていると考えられる。例えばもし、すべての神経系前駆細胞が1回多く分裂すれば、最終的なニューロンの数は倍に増えてしまうことになるからである。神経系前駆細胞の未分化状態を制御する分子として、FGF(Fibroblast Growth Factor)-2などの増殖因子や、Notchシグナルがよく知られている。Notchシグナルはその下流でHes遺伝子の転写を活性化する。Hesは、ニューロン分化を誘導する転写因子であるNgnなどの活性を抑制し、ニューロン分化を抑制していることがわかっている。一方、FGF-2などの増殖因子は、培養系で神経系前駆細胞の未分化状態を維持したまま増殖させることができ、広く用いられているが、その下流のメカニズムについてはこれまで全く不明であった。本論文の1章において、まずFGF-2がどのようなメカニズムで神経系前駆細胞の未分化性を維持しているかについて解析を行っていた。そして、FGF-2による神経系前駆細胞の未分化性維持においてJAK2-STAT3経路が重要であり、STAT3はNotchのリガンドであるDelta-like1の発現を介して周囲の細胞の未分化性を維持していることを明らかにした。

神経系前駆細胞は発生中期においてはニューロンを主に産生し、後期(周産期以降)においてアストロサイトを主に産生する。発生中期において神経系前駆細胞は、すべての細胞がいつせいにニューロン分化するのではない。一部の細胞が選択されニューロン分化し、残りの細胞は未分化状態を維持したまま増殖する。そして発生後期においてアストロサイトへと分化する。このとき、神経系前駆細胞が分化する割合は、最終的なニューロンとアストロサイトの数を決定するのに非常に重要であると考えられる。そこで本論文の2章において、ニューロン分化する細胞の割合を制御しているメカニズムについて解析を行っていた。そして、神経系前駆細胞から一部の細胞が分化する際には、これまで重要であると考えられてきた非対称分裂という機構だけでなく、側方抑制という機構も働いていることを明らかにした。

大脳発生において、多くの細胞死が起こっている。ひとつの試算として、発生期に産生された細胞の約半数が細胞死するという報告もある。このような非常に多くの細胞死がおこる大脳においては、それらの死んだ細胞がすばやく除去される必要がある。本論文の 3 章において、死んだ細胞が何によって貪食されているのかについて解析を行っていた。さらに、細胞が caspase 依存的に死ぬ際には、"eat-me-signal" を出すことで貪食細胞を誘引し、すばやく貪食されることが知られているが、caspase 非依存的に細胞死を起こす際にはこのようなシグナルが働いているか、また貪食されるかについてはいまだ明らかになっていなかった。本論文の 3 章においては、この点についても caspase-9 ノックアウトマウスを用いて解析を行っていた。そして、caspase 依存的、非依存的のどちらの細胞死においても死細胞はマイクログリアによって貪食されており、死細胞の周囲に存在する神経系前駆細胞やニューロンは貪食を行っていないことを明らかにした。また、caspase 非依存的な細胞死においてもマイクログリアによって貪食されているが、その効率が低下していることを見出し、eat-me-signal が caspase 依存的細胞死と異なっている可能性が示唆された。

以上のことより、本論文では脳が構築される際に、FGF-2 という増殖因子が神経系前駆細胞の未分化性を維持する際に Notch シグナルを介することで、神経系前駆細胞の数と分化する割合を制御しているというモデルを考えることで、脳を構築するメカニズムが理解でき、再生工学等の分野において神経系前駆細胞を移植した際に、増殖する数や分化する割合を制御できる可能性に貢献した。さらに、脳の発生においてマイクログリアのみが死細胞を貪食し、その際に caspase 依存的な細胞死において貪食が速やかに行われることを明らかにしており、移植した神経系前駆細胞が細胞死を起こした場合には素早く貪食されるようにできる可能性に貢献した。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。