

別紙2

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 梶村大介

平成18年11月21日に学位請求の内容及び専攻分野に関する学識について口頭による試験を行った。下記のような内容の口頭発表を行い、公開および非公開での質疑応答（主要なものを記載する）があり、的確に答えることができ、専攻分野に関する学識が確認できた。

[口頭発表要旨]

Kruppel-like transcription factors 7 (Klf7) はショウジョウバエ体節形成因子 Kruppel と相同性を有する哺乳類の転写因子であり、マウス Klf7 は発生時に中枢神経系、末梢神経系に発現する。Klf7^{-/-}マウスは致死性で嗅覚系発生異常、神経軸索伸張異常等の表現型を呈する。本研究ではこれらの表現型とリンクする Klf7 下流遺伝子を探索し、Klf7 の神経発生における機能を探った。

Klf7^{-/-}マウスの嗅覚神経細胞では前駆体マーカーである *Ngn1* には発現量の差が見られなかったものの、後期分化マーカーである *GAP43*, *OMP*, *SCG10* の発現が著しく低下しており、Klf7^{-/-}マウスでは嗅覚神経細胞の分化が完了していないことが示された。また *In vitro* 系の実験により *OMP* は Klf7 の直接的ターゲットであることもわかった。マイクロアレイによる嗅覚神経細胞での発現比較では Klf7^{+/+}マウスと Klf7^{-/-}マウス間で 29 遺伝子の発現に差が確認された。これらの遺伝子のうち *L1 cell adhesion molecule (L1)* は神経の軸索伸張に関わる因子として最もよく知られているが、実際に Klf7^{-/-}マウスでは L1 タンパク発現量が減少しており、*OMP* 同様の実験アプローチから *L1* も Klf7 により遺伝子発現が直接的に制御されていることがわかった。マイクロアレイでは L1 以外に細胞骨格関連遺伝子、神経輸送小胞などの軸索主要構成分子の遺伝子発現量が減少していることもわかった。

本研究では Klf7 が嗅覚神経細胞の最終分化に必須の因子であることを明らかにした。また Klf7^{-/-}マウスの軸索伸張異常の原因として L1 発現の低下による可能性、および細胞骨格関連遺伝子、神経輸送小胞などの軸索主要構成分子の遺伝子発現量減少による可能性があることを示し Klf7 依存的軸索伸張のメカニズムに新たな知見を与えるものであった。

下記のような質問に対して的確な説明を行なった。

[質問1] 嗅覚神経細胞分化と胎齢の関係はどうなっているか？*In situ hybridization* で検証したのはそれと照らし合わせてどの時期か？

[答え] 嗅覚神経細胞の前駆体は胎齢(E)9 前後に生まれ E14.5 ころには分化が完了し、最終分化マーカーである OMP が発現し始めます。*In situ hybridization* でマーカー遺伝子発

現を調べた時期は全て胎齢 18.5 で野生型では十分に成熟嗅覚神経細胞が現れる時期である。

[質問 2] OMP はどのような機能分子か？

[答え] OMP は Olfactory mature protein と呼ばれ分化が完了した嗅覚神経細胞でのみ発現します。*OMP*^{-/-}マウスでは形態的な異常はほとんどありませんが、嗅覚の感度が下がるという報告があります。

[質問 3] L1 の構造や機能はどのようなものか？

[答え] Immunoglobulin 用ドメインを持つ細胞膜貫通タンパクで、NCAM などと構造的相関があります。細胞内ではアンキリンと呼ばれるアクチン結合タンパクと会合していく細胞外からの情報に応じてアンキリンを介してアクチンの重合に作用することにより軸索伸張に関わっていると考えられています。*L1*^{-/-}マウスは実際に軸索伸張異常が観察されます。L1 の会合相手としては L1 どうしでの会合をはじめ NCAM やインテグリン、細胞外マトリックスなど様々な会合相手があると報告されています。

以上のように、学位請求の内容及び専攻分野に関する学識から判断し、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。