

論文審査の結果の要旨

氏名 林 悠

高等動物の脳の発生時には軸索や樹状突起の局所的除去が起きることが知られている。この過程は、精密な神経回路の構築や維持に重要であると提唱されているが、優れた研究モデルが少ないため、生理的意義を示す直接的証拠は乏しく、分子機構にも不明な点が多い。神経発生学の分野では線虫 *Caenorhabditis elegans* が、生きたまま神経形態を観察できることや、302個のニューロン全ての接続様式が明らかにされているなどの特長から魅力的な研究対象である。論文提出者は修士課程で、線虫の成長過程において AIM と呼ばれる 1 対の介在ニューロンで神経突起の除去が起きることを発見し、これに新規な転写因子 MBR-1 が関わることを示した。この知見を起点に研究を進めることで、脳発達や維持機構の理解に大きく貢献すると期待される。博士課程においては、線虫における神経突起除去の生理的意義の解析および、その分子機構の解析を行っている。

本論文は 3 章からなる。まず第 1 章では、神経突起除去の生理的意義が解析される。線虫は同じ匂いに曝されるとその匂いへの応答が低下する(嗅覚可塑性をもつ)が、*mbr-1* 変異株ではベンズアルデヒドに対する嗅覚可塑性が見られない。論文提出者はこの行動異常と神経突起除去の異常の関連を検討するため、行動異常の原因となるニューロンの同定を試みた。*mbr-1* 変異株の色々なニューロンで野生型 *mbr-1* を強制発現させたところ、RIF という 1 対のニューロンで発現させると行動異常が回復することが判明した。また、RIF の形態を野生株と *mbr-1* 変異株とで比較したところ、野生株の幼生、*mbr-1* 変異株の幼生と成虫では、AIM と同様、RIF も左右のニューロンが余分な神経突起で接続していた。この結果は RIF も幼虫では左右のニューロンが接続しており、成長過程で MBR-1 の作用によりその接続が除去されることを強く示唆している。RIF では右側ニューロンのみが嗅覚受容ニューロンと接続することから、*mbr-1* 変異株では左右の RIF が接続することで嗅覚情報処理に異常が生じた可能性がある。また、この結果は神経突起除去が AIM に固有な現象ではなく、普遍的な現象であることを示唆した点においても意義がある。

第 2 章では、神経突起除去が特定のニューロンで誘導される機構を解明する目的で、*mbr-1* の上流調節因子の探索を行っている。本研究では 2 種類のホメオドメイン転写因子、UNC-86 と LIN-11 について、前者は *mbr-1* のプロモーター領域に結合配列が存在し、後者は変異株が *mbr-1* 変異株と同様ベンズアルデヒドに対する嗅覚可塑性に異常があることから注目して解析を行った。その結果、*unc-86* 変異株では AIM での *mbr-1* 発現が消失し、*lin-11* 変異株では RIF での *mbr-1* の発現が消失することが判明した。さらに、*unc-86* 変異株では AIM での神経突起除去に異常があることが判明した。以上の結果は、異なるサブクラスのニューロンでは異なるホメオドメイン転写因子が *mbr-1* の発現を誘導し、神経突起除去を引き起こすことを示している。

第3章では、MBR-1の下流遺伝子を2つの方法により検索している。最初の方法では、野生株と *mbr-1* 変異株の幼虫期の遺伝子発現をマイクロアレイ法と定量的 RT-PCR 法により網羅的に比較している。2つ目ではリコンビナント MBR-1 に結合するゲノム断片をクローニングし、MBR-1 の結合サイトを探索している。その結果、前者で13種、後者で20種の候補遺伝子を得た。中でもアセチルコリン (ACh) 受容体およびアポトーシス関連因子の遺伝子は各々4種類ずつ得られており、MBR-1 が ACh 受容体の発現を促進する、あるいは局所的にアポトーシス経路を活性化する等により、神経突起除去が引き起こされる可能性が考えられる。

以上、本研究は、線虫 *C. elegans* を用いて神経突起除去の生理的意義とその分子機構を解析した初めての例である。本研究で同定された因子は動物種を越えて保存されており、動物一般における神経突起除去の理解の端緒になると期待される。今後の動物行動学・神経科学の発展へ大きく寄与するものである。

なお、本論文の第1章と第2章は広津崇亮助教(九州大学)・飯野雄一教授・久保健雄・(東京大学)、第3章は飯野雄一教授・竹内秀明助教(東京大学)・久保健雄との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験を計画し、遂行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断できる。

従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。