

論文内容の要旨

論文題目 遺伝子発現制御を介したシナプス形成過程における Lola の機能解析
(Functional analysis of Lola which controls synapse formation by transcriptional regulation)

氏名 福井 愛

我々の行動は、脳・神経系によって制御されている。脳・神経系は、構成要素である神経細胞が、適切な細胞との間にシナプス構造を形成して結合し合った神経ネットワークである。神経ネットワークが正しく機能するためには、シナプス構造が適切に形成される必要があり、その形成メカニズムを明らかにすることは、脳・神経系の機能を理解する上で非常に重要な課題である。本論文では、ショウジョウバエの神経筋結合系を用いて、シナプス形成過程の解析を行なった。

シナプス形成は、神経細胞がシナプスを作るべき細胞（標的細胞）に向かって軸索を伸長し、数ある細胞の中から標的細胞を認識した後に開始される過程である。シナプスは神経細胞が情報伝達を行なう場所であり、シナプス伝達に必要な様々なタンパク質（シナプス機能分子）が多数局在した特殊な構造をしている。このシナプス構造が正確に構築されるためには、シナプス前細胞である神経細胞と、シナプス後細胞である標的細胞とが相互作用を行ない、互いに分化を誘導することが必要であることが分かっている。このシナプス分化の過程には、大きく分けて 2 つのプロセスが関与すると考えられている。ひとつは、シナプス機能分子のシナプス部への集積が誘導されるプロセスであり、もうひとつは、核における遺伝子発現制御を介したプロセスである。シナプス構造は、発生初期に形成された後、徐々にその形態・機能を成熟させながら、成体に至るまで長期的に維持される。このようにシナプス形成が長期間にわたって持続し、その構造が維持されるためには、後者

のプロセスである遺伝子の発現制御と、それに伴う、新たなタンパク質の合成が非常に重要であると考えられている。

遺伝子発現制御を介したプロセスがシナプス構造の形成・維持に重要であることは、長期的なシナプス構造の変化をもたらすシナプス可塑性についての研究からも明らかになっている。シナプス可塑性とは、成熟したシナプスが神経活動の強さに応じてシナプスの構造を変化させたり、伝達効率を変化させる現象である。これは、神経ネットワークの機能を変化させることから、我々の記憶や学習の基礎となる現象として着目されている現象である。このシナプスの可塑的变化には、短期的な変化と長期的に持続する変化がある。特に長期的な変化には、新たなシナプス構造が形成されることが知られており、そのためには、神経活動に応じて遺伝子発現が制御される必要がある事が分かっている。

このように、遺伝子の発現制御を介したシナプス分化のプロセスは、シナプス形成・維持において非常に重要なプロセスであると考えられる。しかしながら、シナプス構造が初期形成される過程において、どのような遺伝子が発現制御されているのかはほとんど明らかにされていない。哺乳類の神経筋結合シナプスを用いた研究によって、受容体などのごく少数のシナプス機能分子については、シナプス形成期に遺伝子発現が誘導される事が分かっている。しかし、大多数の遺伝子の挙動や、それらの遺伝子がシナプス形成を誘導するプログラムの全貌は明らかでない。

そこで本論文では、ショウジョウバエの神経筋結合シナプスを用いて、シナプス形成過程に関わる遺伝子プログラムを解明することを目的とした。特に、運動神経の支配によってシナプス後細胞（筋肉細胞）でシナプス形成が誘導される際に、どのような遺伝子が発現制御されるかを探索し、それらの遺伝子のシナプス形成における機能を解明することを目指した。先のゲノムプロジェクトの成果により、ショウジョウバエをはじめとするモデル生物のゲノム情報はすべて解読されている。そしてそれに伴って、細胞あるいは組織内での全遺伝子の発現量を一度に調べる事が可能な、DNA マイクロアレイの技術が大きく進歩してきた。本論文ではこの技術を利用して、筋肉細胞における遺伝子発現パターンを、神経支配の前後、神経支配の有無で比較することにより、シナプス形成誘導に関わる遺伝子発現プログラムを探索することを計画した。ショウジョウバエの神経筋システムは、シナプス形成が時間軸に沿って定型的に進行し、その様子がすでに詳細に解析されている。また、筋肉細胞のみをマイクロピペットを用いて単離することが可能であるため、このように特定のシナプス形成期にあるシナプス後細胞を単離し、シナプス形成に伴う遺伝子発現変化を観察する事ができる。このマイクロアレイ解析の結果、シナプス形成期に神経支配によって発現制御される遺伝子を、約 80 個同定することに成功した。これらの遺伝子はシナプス形成に関与している可能性が高いと考えられる。しかしほとんどの遺伝子については、シナプス形成に関わる機能は調べられていなかったため、ショウジョウバエの豊富な遺伝子発現操作技術やトランスジェニック動物のシステムを用いて、シナプス形成における

分子機能の解析を行なった。その結果、少なくとも2遺伝子が、神経終末の形態を制御する働きを持つ事を新たに示した。さらに大きな発見として、転写因子 **Lola** (**Longitudinals lacking**) が、神経伝達物質受容体であるグルタミン酸受容体のシナプス部の発現量を制御する働きを持つ事が判明した。これまでに **Lola** は、神経細胞の軸索伸長の誘導に関与することが示されているが、シナプス機能分子を制御する機能は解析されていない。本論文では、**Lola** のシナプス後細胞での機能に焦点をあてるために、筋肉細胞のみで *lola* をノックダウンしてシナプス形態に与える影響を観察した。ショウジョウバエの神経筋シナプスには、5種類のグルタミン酸受容体サブユニット (**GluRIIA**, **IIB**, **III(IIC)**, **IID**, **IIE**) が発現しており、その中の4種類が複合体を形成して2タイプの受容体 ((**GluRIIA**, **III**, **IID**, **IIE**)、(**GluRIIB**, **III**, **IID**, **IIE**)) を構成している事が分かっている。解析の結果、**Lola** のノックダウン変異体では、2タイプのグルタミン酸受容体の各々に特異的なサブユニットである **GluRIIA**, **GluRIIB**、および共通サブユニットである **GluRIII** のシナプス部の発現量が著しく減少することが分かった。また **Lola** は、受容体以外にも、シナプス後部に局在するシナプス機能分子 **PAK** の発現にも必要であることが判明した。さらに解析を行なった結果、**Lola** はこれらのグルタミン酸受容体およびシナプス機能分子について、その転写産物量を正に制御していることが明らかになった (図)。本論文の結果は、ショウジョウバエの神経筋結合系において、シナプス部に局在する機能分子の転写量を制御する分子を示した最初の例である。さらに **Lola** は同時に複数の分子の転写量を制御することから、シナプス構造の形成・維持において非常に重要な役割を果たしていると考えられる。本論文は、今後のシナプス形成あるいは可塑性における遺伝子プログラムの研究を進める上で、重要な知見を与えるものである。

