

論文内容の要旨

論文題目 Wnt5/PCP経路によるショウジョウバエキノコ体の軸索形成制御に関する研究

(Studies on Wnt5/Planar cell polarity pathway in axonal development of
Drosophila mushroom body neuron)

氏名 清水 一道

序論

意識、認知、記憶・学習などの脳の高次機能は無数の神経細胞が複雑かつ正確な回路を形成することで実現される。この神経回路形成には、神経細胞の増殖・分化、神経軸索の投射、シナプス形成をはじめとする様々な過程が関与しており、特に軸索形成に関する知見は多く得られている。しかし、その全貌は未だ明らかではなく、近年ではモルフォゲンなど他の発生過程に関与する因子群が軸索形成にも寄与する事が明らかとなってきている。本研究では、ショウジョウバエのキノコ体をモデルとして、平面内細胞極性 (Planar Cell Polarity: PCP) 制御因子の神経発生における機能解明を目指した。

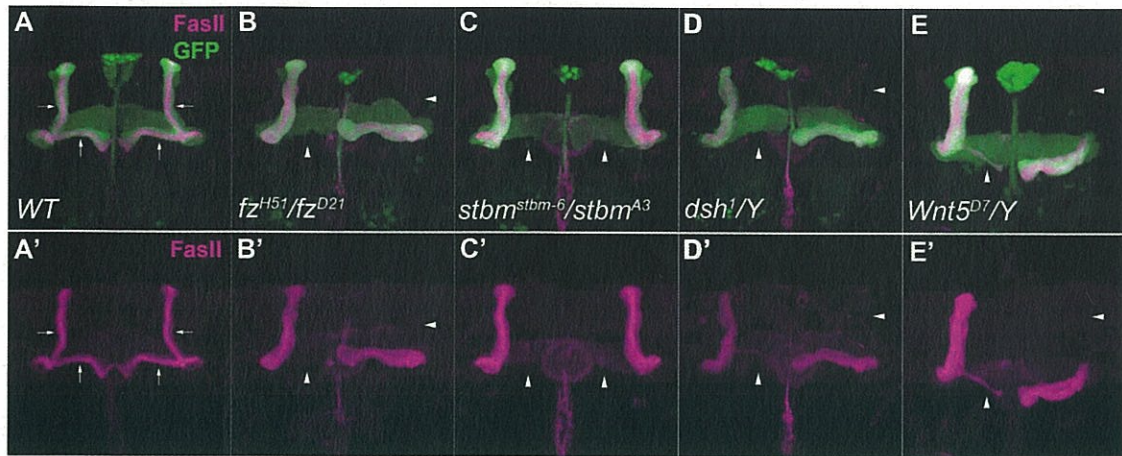
PCP制御因子群はキノコ体の軸索形成に必須である

平面内細胞極性 (PCP) とは上皮などの一層の細胞層内における極性を指し、その形成の分子機構はショウジョウバエの上皮における極性形成をモデルにして研究されてきた。ショウジョウバエのPCP形成には、主に *frizzled* (*fz*)、*strabismus* (*stbm*)、*flamingo* (*fmi*)、*dishevelled* (*dsh*) などの因子が関与する。また、PCP遺伝子の脊椎動物ホモログも上皮細胞の極性形成や収斂伸長における細胞の極性化に重要である事が示されている。神経発生におけるPCP制御因子の機能については、哺乳類において個々のPCP遺伝子が軸索形成に関与していることが報告されているが、PCP遺伝子間の相互作用などは明らかにされておらず、軸索形成においてもPCP形成時と同様のシグナルが働いているかは未知で

ある。そこで、ショウジョウバエの軸索形成におけるPCP制御因子の機能を探るため、Fz、Stbm、Fmi およびPkの発現解析を行ったところキノコ体における発現が認められた。これらの因子は比較的若い神経細胞において伸長中の軸索で発現していたため、PCP制御因子群がキノコ体の軸索形成に関与する可能性が示唆された。そこで、fz変異体 (fz^{F51}/fz^{D21})、stbm変異体 ($stbm^{stbm-6}/stbm^{A3}$) およびdsh変異体 (dsh^I) のキノコ体の形態解析を行った。野生型では軸索束が背側と正中線側へ伸びているのに対し (図A、矢印)、これらの変異体ではキノコ体軸索束の消失または細径化が観察された (図B-D、矢頭)。さらに単一細胞レベルでの解析により、これらの異常が軸索の分岐および投射異常に起因している事が明らかになった。また、PCP遺伝子間には遺伝学的相互作用が見られ、これらの因子群が同経路で機能している事が示唆された。

Wnt5はPCP制御因子群と同経路でキノコ体の軸索形成に関与する

FzはWntの受容体として機能する事が知られているが、ショウジョウバエのPCP経路においてWntリガンドは同定されていない。しかし、本研究ではWnt5変異体 ($Wnt5^{D7}$) がPCP遺伝子の変異体と同様にキノコ体軸索の分岐および投射に異常を示すことを見だし (図E、矢頭)、さらにPCP遺伝子群とWnt5が遺伝学的に相互作用する事を明らかにした。これらの結果は、キノコ体の軸索形成においてWnt5がPCP経路のリガンドとして機能する可能性を示唆している。Wnt5に対する免疫組織染色の結果、Wnt5は発生期の脳において広範囲に発現していることが明らかとなった。しかし、キノコ体内部では軸索領域や細胞体では発現しておらず、樹状突起領域でのみ発現が認められた。そこで、樹状突起領域で特異的にWnt5の発現を回復するレスキュー実験を行い、この領域におけるWnt5の発現がキノコ体の軸索形成において重要である事を示した。さらに、キノコ体のニューロンでWnt5変異体クローンを作製すると、変異体クローンが占める樹状突起領域でWnt5の発現が周辺領域に比較して減少する様子が観察されたことから、この領域に局在するWnt5タンパク質の少なくとも一部はキノコ体のニューロンに由来することが示された。



図：PCP変異体およびWnt5変異体のキノコ体

キノコ体の形態は特異的なGal4系統である*OK107-Gal4*によるGFPの発現と、FasIIタンパク質に対する免疫組織染色により可視化している。野生型では背側と正中線側に軸索束を伸長しているのに対して (A、A'、矢印)、PCP変異体やWnt5変異体では軸索束の消失が観察される (B-E'、矢頭)。

結論

本研究では、PCP遺伝子群が神経軸索の発生において協調して機能する例を初めて発見するとともに、Wnt5がPCP経路のリガンドとして機能する可能性を示唆した。さらに、キノコ体神経細胞の樹状突起から分泌されたWnt5が、新たに軸索を伸長する若いキノコ体神経細胞の軸索形成を制御することを示した。