

論文審査の結果の要旨

氏名 清水 一道

本論文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) を制御する因子群の神経軸索発生における機能を解析している。PCPシグナルやキノコ体の構造・発生等については第2章の序論で述べられている。神経回路の形成には、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、特に軸索形成過程は神経回路構造の全体像を規定する重要な過程だと考えられる。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た。PCPを制御する因子群も軸索形成に関与することが示唆されているが、その実体はほとんど明らかにされていない。そこで、本研究では遺伝学的・免疫組織化学的手法によりPCP制御因子群の神経発生における機能解析を行っている。なお、第3章には実験に用いた材料および実験手法が記載されている。

第4章では本研究の結果について述べられている。佐藤純博士による先行研究により、*frizzled (fz)* のmRNAがショウジョウバエのキノコ体で発現していることがわかっていたことから、論文提出者は、Fzおよび、他のPCP制御因子であるStrabismus (Stbm)、Flamingo (Fmi) に対する免疫組織染色を行い、これらがキノコ体の伸長中の軸索に局在することを明らかにした。この結果から、これらの因子がキノコ体の軸索形成に関与すると考え、これらの因子および *dishevelled (dsh)* の変異体解析を行い、PCP制御因子群がキノコ体の軸索形成に必要であることを示した。さらに、これらの変異体背景において単一細胞をラベルすることで、これらの因子が軸索の分岐および投射に必要なことを明らかにした。PCP制御因子群は平面内細胞極性の形成において互いに協調して機能することが知られており、論文提出者はキノコ体の軸索形成においてもこれらの因子が協調して機能することを遺伝学的相互作用の解析により示した。この結果はキノコ体の軸索形成においてもPCP形成時と同様のシグナルが用いられている可能性を支持するものである。

PCP制御因子の一つであるFzはWnt経路の受容体としても機能している。キノコ体の軸索形成へのWntの関与を検討するために、Wnt遺伝子の変異体を解析し、

*Wnt5*変異体においてキノコ体の形成異常を見いだした。*Wnt5*変異体では、PCP制御因子の変異体と同様にキノコ体の軸索投射および分岐に異常が生じ、さらに、*Wnt5*とPCP制御因子の間に遺伝学的相互作用が見られたことから、論文提出者は*Wnt5*をPCP経路のリガンドであると提唱した。免疫組織染色による解析により、*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になった。特に、キノコ体の内部では、キノコ体の樹状突起で形成されるカリックスにおいて顕著な局在が検出された。カリックスにおいて*Wnt5*の発現を回復することで*Wnt5*変異体の表現型がレスキューされたことから、カリックスに局在する*Wnt5*がキノコ体の軸索形成に重要であることが示された。また、*Wnt5*変異体のクローン解析やキノコ体特異的なRNAiの誘導による*Wnt5*のノックダウン実験により、カリックスに局在する*Wnt5*の少なくとも一部はキノコ体から分泌されるものであることを示した。加えて、最後に、PCP因子群の局在制御、古典Wnt経路の関与の有無について述べている。

以上の結果をもとに、第5章ではキノコ体の軸索形成における*Wnt5*/PCPシグナルの機能について考察が加えられている。キノコ体から分泌されてカリックスに蓄積した*Wnt5*が、PCP経路を介して後に産生されたキノコ体ニューロンの軸索投射および分岐を制御していると考え、PCP経路が軸索投射において果たす役割についてモデルを提唱している。

本研究は、神経軸索の形成においてPCP経路が協調して機能することを初めて示すものである。また、ショウジョウバエにおいてPCP経路のリガンドとして機能するWntとして*Wnt5*を初めて同定した。

理論、実験の組み立ては十分高い水準にあり、実験結果は明快なデータによって示されている。PCP経路が神経軸索の発生に関与する例は哺乳類でも知られており、本研究で得られた知見は、PCP経路の神経発生における普遍的機能を解明する糸口となると期待される。なお、本論文は佐藤純博士、多羽田哲也博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本研究は博士（理学）の学位に値するものと考えられる。