別紙１－１

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※　甲　第　　号

氏　　名　伊藤　翼

論　文　題　目

ゼブラフィッシュにおける下オリーブ核ニューロン分化の分子機構の解明

論文審査担当者

主　査　名古屋大学大学院理学研究科　教授　博士(医学)　日比　正彦
委　員　名古屋大学大学院理学研究科　教授　博士(薬学)　上川内　あづさ
委　員　名古屋大学大学院理学研究科　教授　理学博士　田中　実
委　員　自然科学研究機構生命創生探求センター
教授　博士(理学)　東島　眞一

別紙１－２

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

神経回路を構成する個々のニューロンは、発生段階において、神経前駆細胞から分化する。神経前駆細胞は、その位置に応じて周りの細胞から細胞間シグナルを受けることにより、様々な転写因子を発現し、特定のニューロンへと細胞運命を決定し分化する。運動制御や運動学習に関わる小脳神経回路は、前後・背腹軸に沿って配置される複数のニューロンから構成され、位置情報に応じたシグナルによるニューロン形成機構を明らかにするための良いモデルと考えられている。

発生過程において、小脳神経回路の主要ニューロンであるプルキンエ細胞とその入力細胞である下オリーブ核ニューロンは、後脳領域から形成される。後脳領域は、吻側から尾側にかけて第 1-7 菱脳節に分けることができる。これまでの研究から、プルキンエ細胞と下オリーブ核ニューロンは、転写因子をコードするプロニューラル遺伝子 *ptf1a* を発現する神経前駆細胞に由来することが分かっていた。しかし、この二つの異なるニューロンが、*ptf1a* 発現神経前駆細胞から形成されるメカニズムは不明であった。申請者は、ゼブラフィッシュを用いて、下オリーブ核ニューロンの形成機構の解析を行った。

まず、下オリーブ核ニューロンの神経前駆細胞で、*ptf1a* 遺伝子と共発現するホメオボックス転写因子をコードする *gsx2* 遺伝子を見出した。CRISPR/Cas9 法を用いて *gsx2* と *ptf1a* の機能欠損変異体を作製し表現型の解析を行い、*gsx2* と *ptf1a* が下オリーブ核ニューロンの形成に関与することを明らかにした。さらに、*gsx2* と *ptf1a* の発現はお互いに依存しないこと、*ptf1a* は神経分化に関与し *gsx2* は下オリーブ核ニューロンの運命決定に関与することを明らかにした。

次に、*gsx2* が第 7 菱脳節の下オリーブ核ニューロンの神経前駆細胞に発現することから、前後の位置情報に基づいた *gsx2* の発現制御機構の解析を行った。これまで、後脳後方（第 4-7 菱脳節）のパターン形成には、第 4 菱脳節で産生される FGF3/8a と体節から産生されるレチノイン酸の濃度勾配が関与することが知られていた。申請者は、レチノイン酸や Fgf3/8a シグナルの阻害実験を行い、レチノイン酸シグナルが *gsx2* の発現を正に制御し、Fgf3/8a シグナルが *gsx2* の発現を負に制御することを見出した。さらに、Fgf シグナルの下流で発現する Mafba が *gsx2* の発現を負に制御し、レチノイン酸シグナルの下流で発現する Hox タンパク質が *gsx2* の発現を正に制御することを明らかにした。

以上のように、申請者は、神経組織の位置情報シグナルにより発現が制御される *gsx2* が、*ptf1a* 発現神経前駆細胞から下オリーブ核ニューロンへの細胞運命決定の役割を担うことを明らかにした。本研究は、脳の中で多種多様なニューロンが産生されるメカニズムの一端を明らかにしたものであり、神経発生学の基本原理の理解に大きく寄与したと評価される。よって、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。