

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 李 晨旻

論 文 題 目

A mouse model of microglia-specific ablation in the embryonic central nervous system

(胎生期中枢神経系におけるミクログリア特異的除去マウスモデル
の構築)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

山中 宏二



名古屋大学教授

委員

和氣 弘明



名古屋大学教授

委員

竹本 紗也か



名古屋大学教授

指導教授

木山 博資



論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

ミクログリアは胎生期中枢神経系（CNS）で様々な役割を果たしていると考えられる。しかし、効果的なミクログリア除去モデルはないことも影響し、胎生期 CNS におけるミクログリアの役割はほぼ分かっていない。そこで、ジフテリア毒素（DT）受容体遺伝子をミクログリア特異的遺伝子座にノックインした **Siglech^{dt}** マウスの羊水に DT を注入することで、胎生期ミクログリア除去モデルを作成した。組織学的検討の結果、ミクログリアが CNS に侵入し始める E10.5 以降の任意のタイミングで、CNS 全体（ミクログリアが一時的に集積するいくつかの領域を含む）にわたりミクログリアが四日間除去されることが明らかになった。髄膜に存在するマクロファージは影響を受けなかったことから、この除去モデルはミクログリア特異的であり、胎生期におけるミクログリアの機能解析に有効であることが示された。





本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 中枢神経系において死細胞の残骸を貪食し処理するのはミクログリアの役割であると考えられている。ミクログリア除去後、成獣ではアストロサイトがミクログリア残骸を貪食することが報告されているが、今回実験を行った胎生中期ではアストロサイトはまだ誕生していない。しかし、**CD11b⁺CD11c⁺**の小型の細胞が中枢神経系に入ってきて、残骸を貪食することを観察している。ミクログリア貪食能を補助すると考えられるこの細胞の種類や起源を特定することは、今後の課題であると考えている。
2. DT 投与後に生き残ったミクログリアは、正常なミクログリアに比べ、突起が短くなるとともに細胞体は丸くなる。この形態変化は DT による細胞ダメージであると予想している。サイトカインなどの分子発現変化に関しては、生き残ったミクログリアを単離し、RNA-seq などで遺伝子発現を調べることが必要であり、今後の課題と考えている。
3. 博士課程入学時、胎生期でのミクログリア機能予測のため、細胞局在を観察したところ、E12.5 で dorsal root entry zone (DREZ) に集積することを見出した。そこで、ミクログリアが DREZ に集積する原因とその結果を明らかにするために、このミクログリア除去モデルを確立した。脊髄後根神経節から軸索は DREZ を介して脊髄実質中へと伸び、標的細胞に到達する。DREZ に集積したミクログリアは、軸索の伸長や標的細胞への誘導を制御する可能性が予想される。このミクログリア除去モデルで、軸索走行の乱れが起こることを期待している。

本研究は、胎生期ミクログリア除去モデルを作成することで、ミクログリアの機能研究に有効な方法を提供した。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	李 晨旻
試験担当者	主査	山中 宏二 	副査 ₁	和氣 弘明 
	副査 ₂	竹平 さや 	指導教授	木山 博資 
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ミクログリア除去後にミクログリア残骸を処理する細胞種について 2. ジフテリア毒素投与後に生き残ったミクログリアのサイトカイン発現などの特徴について 3. 脊髄のdorsal root entry zoneに注目した理由とこのミクログリア除去モデルを用いることで得られる展望について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、機能組織学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				