

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 川上 巧

論 文 題 目

Neurogenin2-d4Venus and *Gadd45g-d4Venus* transgenic mice:
Visualizing mitotic and migratory behaviors of cells committed to
the neuronal lineage in the developing mammalian brain

(*Neurogenin2-d4Venus* および *Gadd45g-d4Venus* トランスジェニックマウス：発生過程の(哺乳類)脳における神経細胞系譜に入ることが決定した細胞の細胞分裂と細胞挙動の可視化)

論文審査担当者

主 査


委員

名古屋大学教授

藤 本 豊 士 

委員

名古屋大学教授

木 山 博 資 

委員

名古屋大学教授

久 場 博 司 

指導教授

名古屋大学教授

宮 田 卓 樹 

論文審査の結果の要旨

発生中の脳原基における「分化途上細胞」の形態と動態を鋭敏かつ網羅的に観察するために、分化途上細胞に一過性発現することが知られている *Neurog2* および *Gadd45g* のプロモーター活性依存的に分解促進的蛍光蛋白 *d4Venus* を発現させるトランスジェニックマウス

(*Neurog2-d4Venus* および *Gadd45g-d4Venus*) を作成した。作製した両マウスは、ヘテロな細胞集団で構成される脳室帯のなかで、分化途上細胞のみを漏れなく、すぐれた形態描写性をもってライブ観察することを初めて可能にした。さらに本マウスは脳にとどまらず、神経系全般の分化途上細胞の挙動解析にも有用であることから、本マウスを用いて得られる知見が、神経系発生における細胞運命選択と組織形成に関する普遍的なルールの理解につながることを期待される。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 分化途上細胞は、①その後ニューロンへと移行するタイプと、②細胞分裂を行い、ニューロンペアを産生するタイプの2つに大別することができる。分裂タイプの分化途上細胞はさらに、「脳室下帯」で分裂するものと、「脳室面 (apical 面)」で分裂するものの2種類が存在する。前者は、basal progenitor (BP) と呼ばれており、分裂前に脳室面から脱離し、突起構造を有しない細胞体のみで細胞分裂を行うことが知られている。一方後者は、脳室面から脳膜面へと細長く伸びた突起構造を有しており、未分化な神経前駆細胞と同様に、細胞体を脳室面へ移動させた後に細胞分裂を行うことが本研究により明らかとなった。これらのサブタイプが生じるメカニズムは不明ではあるが、それぞれの出現頻度や時空間分布を網羅的に調べることで、ニューロン生産数の調整機序や、脳組織構築の原理をシステム生物学的に解き明かすことが出来るかもしれない。
2. 前述した「apical 面で分裂する分化途上細胞」は脳、小脳、網膜、神経管において観察され、それぞれ apical 面で分裂する全細胞の内 5%、4%、21%、11% 存在することが明らかとなった。網膜は他の3組織とは構造的に大きく異なり、basal 面よりも apical 面の面積が広いこと、構造的にゆとりのある apical 側への細胞体移動およびその後起きる細胞分裂が比較的容易である(近隣細胞からの物理的拘束を受けにくい)可能性が考えられる。網膜における「apical 面で分裂する分化途上細胞」の出現頻度が他の3組織よりも高いのは、その構造的な優位性に起因するものと推察される。
3. *Neurog2* の上流因子は不明だが、下流因子として *Tbr2* や *Delta-like 1(Dll1)* が知られている。転写因子である *Tbr2* は前述した BP のマーカー遺伝子として報告されており、そのエンハンサー領域に直接 *Neurog2* が結合することで転写が促される。*Dll1* は膜結合型タンパクで、Notch のリガンドとして機能する。*Dll1* と隣接細胞の細胞膜表面に局在する Notch とが結合すると、活性型 Notch が核内へとシグナルを伝播し、未分化性維持に関与する *Hes1/5* の発現を活性化させる。つまり、*Dll1* 提示細胞は近隣細胞が分化しないように「側方抑制」をかける役割があると考えられている。本研究で作成したマウスは、*Dll1* の提示主である分化途上細胞の空間分布およびその動態をリアルタイムで調べるツールとして有用であり、*Dll1*-Notch の側方抑制を介した細胞運命決定機構の解明に貢献することが期待される。

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 | 川上 巧 |
| 試験担当者 | 主査 | 藤本 豊 榎 | 木山 博 資 | 入場 博 司 |
| | 指導教授 | 宮田 卓 樹 | | |

(試験の結果の要旨)

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。

1. 分化途上細胞群に存在するサブタイプと、それらの相違点について
2. 大脳以外の上皮組織における「apical面で分裂する分化途上細胞」の有無
3. Neurog2の上流および下流の因子について

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、細胞生物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。