

博士論文審査報告書

論文題目：特殊な正中線グリアと軟骨膜のゼブラフィッシュ分子遺伝学を用いたイメージング解析

申請者： 中山 創平

1. 論文内容の要旨

本論文では、ゼブラフィッシュを脊椎動物のモデルとして、酵母由来の転写因子 Gal4 遺伝子が染色体に組み込まれた系統(SAGFF(LF)134A)とレポーター系統 Tg(UAS:GFP)を掛け合わせ、Gal4 の発現を GFP (緑色蛍光蛋白質) で可視化して詳しく分析した。その結果、頭部顔面骨格の軟骨と軟骨周囲細胞層で GFP の発現がみられ、初期の骨化は軟骨周囲細胞と軟骨細胞の境界で開始する事が示された。一方、神経系では、正中線上にある2種類の特殊な放射状グリア細胞(フロアプレートと背側正中線グリア)、循環器系では血管内皮に直接接触する間充織細胞で GFP の発現が確認された。次に、紫外線によって緑から赤に蛍光色に変化する蛋白質 KikGR (キクメ緑赤蛋白質) を、(SAGFF(LF)134A)とレポーター系統 Tg(UAS:KikGR)を掛け合わせる事によって、フロアプレートにおいて発現させ、単一細胞に紫外線を照射して赤くラベルしたのち、タイムラプスイメージングを行い、36時間で立方体状から杯状に形態変化することを証明した。また、フロアプレートに存在する左右の脊髄を交叉するインターニューロンの「通り道」となる穴を同定した。さらに、背側正中線グリアは感覚神経ローハンベアド細胞と密接に接触している事をはじめて見いだした。

2. 論文審査結果

本論文では、頭部顔面骨格の軟骨周囲細胞層、および正中線上にある2種類の特殊な放射状グリア細胞、また、血管内皮と接触する間充織細胞など、骨格、神経、循環器系発生において重要でありながら、これまで形態と発生についてあまり研究が進んでいなかった細胞を生きのまま可視化できるトランスジェニック系統の報告を行っている。次に、ゼブラフィッシュ分子遺伝学とイメージング技術を駆使して、単一細胞の詳細な形態変化を観察することに成功した。また、正中線グリア細胞と特定の神経細胞とが密接に接触していることをはじめて発見した。以上の成果は、脊椎動物の骨格、神経、循環器系発生における細胞相互作用を単一細胞レベルで明らかにするための新しい基盤的なツールと知見を提供したと評価できる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成24年1月19日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査： 八田 公平 印

副査： 渡辺 憲二 印

： 西谷 秀男 印

： 樋口 芳樹 印

： 日比 正彦 印

(名古屋大学生物機能開発利用研究センター 教授)