

博士論文審査報告書

論文題目：ホヤ胚における神経細胞の個性を規定する分子メカニズムに関する研究

申請者：西辻 光希

1. 論文内容の要旨

正常な神経系の構築には、決まった場所に正しい数、種類の神経細胞が分化することが必須である。そのための情報はゲノムに書き込まれており、ゲノム情報を解読することは神経系の構築メカニズムを理解する上で重要である。しかしながら脊椎動物においては神経細胞の数は膨大であり、個々の神経細胞の分化メカニズムの解析は非常に困難である。また、発生プログラムにおいて重要な役割をもつシス制御配列は、脊椎動物ゲノムの大半を占める非コード領域に埋め込まれており、その解明は進んでいない。尾索動物ホヤの幼生の中枢神経系は、形態形成様式や前後軸に沿った発生調節遺伝子の発現パターンなどに脊椎動物と根源的な共通性がみられる。その一方、ホヤ幼生の中枢神経系はわずか 200 個程度の神経細胞から構成されており、コンパクトなゲノムを持ち合わせている。さらに、ホヤ胚は発生過程の遺伝子操作や細胞観察が容易であり、個々の神経細胞の分化メカニズムの解析に適した条件が整っている。

本論文では、ホヤ（カタユレイボヤ）のゲノム情報を利用して、興奮性のグルタミン酸作動性神経細胞と抑制性の GABA/グリシン作動性神経細胞の発生メカニズムの解析を行った。グルタミン酸作動性神経細胞に特異的な小胞型グルタミン酸トランスポーター遺伝子の発現に必要なシス調節領域を明らかにし、POU-IV という転写因子がグルタミン酸作動性表皮神経細胞の形成に必須であることを示した。GABA/グリシン作動性神経細胞としては、ホヤ幼生の遊泳運動を制御する神経回路（中枢パターン発生器）を構成する ACIN 細胞の細胞系譜を明らかにし、この細胞に特異的な遺伝子の発現に必要な十分なシス調節領域を同定した。転写因子の機能阻害実験と強制発現実験により、ACIN の分化制御に SoxB1 という転写因子が重要な役割をもつことを示した。本論文で得られた知見は、多くの動物において普遍的に存在する 2 つのタイプの神経細胞の発生機構の解明への足がかりになると期待できる。

2. 論文審査結果

本論文で申請者は、ホヤ幼生をモデルとして、脊椎動物にも共通にみられる2つの神経細胞型（グルタミン酸作動性神経細胞、GABA/グリシン作動性神経細胞）の分子レベルおよび細胞レベルの分化機構を解析した。それぞれの細胞型に特異的な分子マーカーとして、小胞型グルタミン酸トランスポーター（VGLUT）と小胞型GABA/グリシントランスポーター（VGAT）に注目し、比較ゲノム解析と蛍光レポーターを用いた胚個体内での機能解析実験により、細胞型特異的な遺伝子発現に重要な役割をもつシス調節モジュールを同定した。グルタミン酸作動性神経細胞に関しては、表皮神経細胞での *VGLUT* の発現に必要な転写調節因子として POU-IV を予測し、個体レベルの遺伝子ノックダウン実験と強制発現実験により、POU-IV が *VGLUT* の発現のみならず表皮神経の分化に必要であることを明らかにした。GABA/グリシン作動性神経細胞に関しては、運動制御回路の構成要素である抑制性介在神経細胞（ACIN）の発生機構を解析し、受精卵から ACIN の分化にいたる細胞系譜を明らかにし、その過程を制御する分子機構に関するモデルを提唱した。さらに、転写調節因子 SoxB1 が、ACIN 分化を抑制的に制御することを実験的に示した。

本論文は、脊椎動物においても解明が進んでいない、神経細胞に個性を与える分子機構の一端を明らかにした研究であり、脊椎動物の神経系の構築機構にも示唆を与える知見として重要である。また、特定の神経細胞型に関して、受精から最終分化に至る細胞系譜を明らかにした本研究は、ホヤ神経系形成の全過程の解明に向けた大きな一歩といえる。

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24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

： 樋口 芳樹 印

： 日下部 岳広 印

（甲南大学理工学部、教授）