

張 三兵 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Function of draxin on hippocampal development
(海馬発達におけるドラキシンの機能)

海馬は空間認識や学習・記憶などの脳機能に深く関わっており、その組織構築や神経回路がどのような機構で形成されるかは重要な課題である。これまで、海馬の発達に関して、Wnt や Emx2 などいくつかの分子の関与が報告されているが、その全貌の解明に至っていない。ドラキシンは申請者が所属する研究室によって最近同定された神経軸索反発因子で、ドラキシン欠損マウスは成熟段階において海馬が委縮していることが報告されている。

本研究は、ドラキシン欠損による海馬委縮の細胞機構を解明し、ドラキシンが海馬の発達に果たす役割を探索することを目的に行われた。まず、海馬におけるドラキシンの発現パターンを *in situ hybridization* 法と X-gal 染色法で胎生 17.5 日から生後 30 日までの期間において調べた。歯状回から CA 領域まで発現が見られ、発達に従って減弱することを明らかにした。細胞レベルでは、分散培養した海馬細胞を用いた解析より、神経細胞とグリア細胞およびラジアルグリアの何れもドラキシンを発現することが示唆された。続いて、ドラキシン欠損マウス海馬の大きさの変化を定量的に調べた結果、海馬の長軸方向と短軸方向の何れにおいても、野生型に比べ、大きさが減少したことを明らかにした。海馬を吻側部と尾側部に分けてそれぞれの体積を計測したところ、出生日には野生型に比べ、有意な差が認められなかったが、生後 10 日目と 45 日目においては、吻側部のみドラキシン欠損によって有意に委縮した。この委縮は錐体細胞ではなく、歯状回顆粒細胞の数の減少によることを定量的な立体解析法により突き止めた。海馬委縮の細胞機構を調べるために、胎生 18.5 日から生後 10 日にかけて、BrdU の取り込みによって細胞増殖を調べた結果、ドラキシン欠損動物と野生型動物の海馬において有意差を認めなかった。一方、単鎖 DNA に対する抗体でアポトーシスを調べた結果、ドラキシン欠損動物において有意に増加したことが明らかとなり、ドラキシン欠損マウスに観られる海馬の委縮はアポトーシスの亢進によると結論付けた。また、本研究では、ドラキシン欠損により、脳弓が形成されないことと海馬苔状線維の走行異常も明らかにされた。

審査の過程において、(1) 海馬の吻側部と尾側部におけるフェノタイプの違いの原因、(2) 脳弓と苔状線維に観られた異常の分子機構、(3) ドラキシン欠損マウスにおいて、海馬以外でアポトーシスによるフェノタイプの有無、(4) ドラキシン欠損動物に記憶障害の有無、(5) ドラキシンからアポトーシスに至る分子機構、(6) ドラキシン欠損動物の生後発達におけるアポトーシスの亢進の有無、(7) ドラキシンと Wnt シグナル伝達系との関係、(8) *in situ hybridization* プロトコルの検討、(9) ドラキシン発現の時間・空間的なパターンとドラキシン欠損マウスに観られるフェノタイプとの対応関係、(10) 海馬においてアポトーシスが顆粒細胞に選択的に起こるメカニズムなどについて質問がなされ、申請者から概ね適切な解答と考察がなされた。

本論文は、ドラキシン欠損マウス海馬について定量的な解析を行い、ドラキシンが海馬の発達に重要な役割を果たしていることを示すものであり、学位の授与に値すると評価した。

審査委員長 知覚生理学担当教授

宋文杰

審査結果

学位申請者名：張 三兵

専攻分野：神経分化学

学位論文題名：

Function of draxin on hippocampal development
(海馬発達におけるドラキシンの機能)

指導： 田中 英明 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成22年2月1日

審査委員長 知覚生理学担当教授

宋文杰

審査委員 脳発生学担当教授

嶋打建児

審査委員 細胞情報薬理学担当教授

中西宏之

審査委員 脳回路構造学担当准教授

竹林浩秀