

| | | | |
|---------|---|--------|---------|
| 氏名(本籍) | ます だ とも ゆき 増 田 知 之 (東京 都) | | |
| 学位の種類 | 博 士 (医 学) | | |
| 学位記番号 | 博 甲 第 3434 号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成 16 年 3 月 25 日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | |
| 審査研究科 | 医学研究科 | | |
| 学位論文題目 | Differential non-target-derived repulsive signals play a critical role in shaping initial axonal growth of dorsal root ganglion neurons (脊髄一次求心性線維の投射路形成における非標的由来軸索反発因子とその受容体の解析) | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 朝 田 隆 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士(医学) | 梶 正 幸 |
| 副査 | 筑波大学助教授 | 医学博士 | 山 本 三 幸 |
| 副査 | 筑波大学講師 | 医学博士 | 岩 本 義 輝 |

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

神経回路形成において、拡散性因子と非拡散性因子が重要な役割を果たしている。投射路形成期の脊髄一次求心性線維に対して、脊索・脊髄腹側部・皮筋節といった非標的組織は拡散性の軸索反発因子を分泌して一次求心性線維の投射路形成に関与している。以前に著者は脊索の分泌する軸索反発因子の受容機構に axonin-1/SC2 が関与することを明らかにしたが (*Dev. Biol.* 2000), 上記の組織由来の軸索反発因子とそれらの因子に対する axonin-1/SC2 以外の受容体は不明であった。本研究は脊索のみならず皮筋節・脊髄腹側部の示す軸索反発機構を担う分子を解明することで、発生初期の脊髄神経節 (DRG) の軸索誘導機構の分子レベルでの総合的な理解を目指した。

(対象と方法)

対象；

孵卵 2 - 5 日のニワトリ胚, 胎生 11.5 - 13.5 日の野生型および, *Sema3A* もしくは *neuropilin-1* 欠損マウス胚を用いた。

方法；

- 1) *in situ* hybridization 法；組織切片に対する *in situ* hybridization 法を用いて、孵卵 2 - 3.5 日のニワトリ胚胸髄レベルにおける *Sema3A* の発現様式を解析した。
- 2) 3次元コラーゲンゲル培養法；ニワトリ胚や *neuropilin-1* 欠損マウス胚から切り出した DRG を、ニワトリ胚や *Sema3A* 欠損マウス胚から切り出した脊索, 脊髄腹側部, および皮筋節, もしくは *Sema3A* を一過性に発現させた COS 細胞塊とコラーゲンゲル中で培養した。培地中に *neuropilin-1* または *axonin-1/SC2* に対する機能阻害抗体, ならびに GPI アンカーを特異的に切断する酵素である PI-PLC を加えるものも用意した。
- 3) 免疫組織化学； β -tubulin に対する抗体を用いて孵卵 3 - 3.5 日のニワトリ胚の胸髄レベルにおける脊髄

一次求心性線維を染め出した。また neuropilin-1 に対する抗体を用いて胎生 11.5 日の野生型マウス胚の胸髄レベルにおける neuropilin-1 の発現様式を調べた。

(結果)

以下の結果が得られた。1) 皮筋節の示す DRG 軸索反発メカニズムは、軸索反発因子 Sema3A とその受容体 neuropilin-1 にのみ依存している。2) 脊索による DRG 軸索反発メカニズムは、軸索反発因子 Sema3A とその受容体 neuropilin-1 に依存したメカニズムの他に、細胞接着分子 axonin-1/SC2 を介したシステムと Sema3A/neuropilin-1 も axonin-1/SC2 も介さないシステムの計 3 つのシステムが存在する。3) 脊髄腹側部による DRG 軸索反発作用は、軸索反発因子 Sema3A/neuropilin-1 に依存しておらず、細胞接着分子 axonin-1/SC2 がその受容機構に関与している。

(考察)

脊髄腹側部と皮筋節はその後の発生過程で脊髄一次求心性線維の標的組織に変化する点で興味深い。非標的組織から標的組織への変化をもたらす要素は明らかとなっていないが、1) 脊髄腹側部と皮筋節での軸索反発因子の発現低下、2) DRG 軸索での軸索反発因子に対する受容体の発現低下、3) 細胞外基質による DRG 軸索の反発因子への反応性の調節等がその原因として考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究の結果から、非標的組織由来の軸索反発機構は各々三者三様の異なるシステムによって機能することが明らかとなった。ある特定の軸索の誘導に 3 種類の異なる反発機構が関与することを総合的に示した研究は他に例がなく、神経回路形成機構を理解する上で今後の研究に大きな影響を与える優れた研究である。さらに DRG 軸索の形成機序を担う分子を解明したことから、脊髄損傷後の機能回復を目指した臨床的研究にも広く基礎的知見を与えうる研究として位置付けることができる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。