

氏名(本籍)	望 ^{もち} 月 ^{つき} 洋 ^{ひろ} 明 ^{あき} (東京都)			
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博乙第2567号			
学位授与年月日	平成23年11月30日			
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Molecular Genetic Analysis of the <i>Drosophila</i> UNC-51/ATG1 Kinase in Axonal and Dendritic Development (ショウジョウバエ UNC-51/ATG1 キナーゼの軸索および樹状突起発生における分子遺伝学的解析)			
主査	筑波大学教授	理学博士	古久保-徳永 克男	
副査	筑波大学教授	理学博士	漆原 秀子	
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	千葉 親文	
副査	筑波大学准教授	医学博士	中谷 敬	

論文の内容の要旨

細胞内物質輸送は、細胞が正常に機能、生存するために必要不可欠な生物学的現象である。この輸送により、タンパク質やRNAなどの高分子のみならず、ミトコンドリアや細胞内小胞などの様々な細胞内小器官が、キネシンやダイニンなどの分子モーターにより目的地に運ばれる。*unc-51* は、セリン・スレオニンキナーゼをコードする進化的に保存された重要な神経発現遺伝子の一つであり、種を超えて神経回路形成機構に重要な役割を果たしていることが示唆されている。本研究では、神経回路形成における *unc-51* 遺伝子の機能を明らかにすることを目的に、ショウジョウバエを使用して *unc-51* の機能欠失変異体を作成し、軸索輸送における機能を明らかにするとともに、キノコ体や触覚葉などのショウジョウバエ脳高次構造の形成過程における機能を、分子遺伝学的手法を用いて解析した。それにより、UNC-51 タンパク質が、キネシン依存的な軸索輸送の制御に重要な機能を有するのみならず、高次構造形成過程において軸索束形成、樹状突起の特異的ターゲティングなどの必須の機能を持つことを明らかにした。

キノコ体はショウジョウバエにおける学習・記憶の中核として機能している。UNC-51 抗体を用いて三齢幼虫の脳に対して抗体染色を行った結果、UNC-51 はキノコ体の神経突起伸長中の若い神経細胞の軸索束で特に強い発現が確認され、この遺伝子が軸索形成に関わっている事が示唆された。さらに、神経回路形成における UNC-51 の機能を探るために、*unc-51* 変異体が示す幼虫期の脳形成の異常を、共焦点顕微鏡を用いて詳細に解析し、*unc-51* 変異体における軸索線維束形成異常と神経層構造崩壊が明らかとなった。

さらに、運動神経において UNC-51 がキネシン依存的な輸送を制御しているというこれまでの結果にもとづき、様々なタンパク質のキノコ体神経細胞内局在を野生型と *unc-51* 変異型と比較観察した。その結果、キノコ体においても UNC-51 が細胞内の物質輸送に関わっていることを確認した。さらに、神経接着因子 Fasciclin II が、*unc-51* 変異体では軸索のみならず樹状突起や軸索小丘領域にも局在する事が明らかとなった。一方、樹状突起に優先的に局在する神経接着因子 Dscam の局在には野生型と *unc-51* 変異体とで変化はなく、UNC-51 は選択的な物質輸送制御を行っていることが示唆された。

さらに、軸索と樹状突起の形成過程における UNC-51 タンパク質の分子機能を明らかにするために、*unc-51* とキネシン軽鎖遺伝子との二重変異体における遺伝学的相互作用を検証した。これにより、*unc-51* とキネシン軽鎖遺伝子との二重変異体において、キノコ体での Fasciclin II の局在異常や樹状突起の伸長異常が認められた。加えて、キネシン軽鎖遺伝子の単独の変異体の解析により、キネシン軽鎖の異常が、*unc-51* 変異体と同じような軸索の線維束形成の異常や、樹状突起の過度な伸長が確認された。以上のことから、UNC-51 タンパク質は、キノコ体神経に於いても、キネシン軽鎖と協調して細胞内の物質輸送制御を制御しており、これにより神経回路形成に重要な役割を果たしている事を明らかにした。

審査の結果の要旨

ヒトの脳は1000億を超える膨大な数の神経細胞から構成されており、その形成機構の理解は現在の神経科学の中心的課題である。神経細胞は高度に発達した細胞内極性を有し、神経興奮を電気信号として伝達する軸索と、シグナル受容部位である発達した樹状突起から構成される。脳の発生過程においては、様々な軸索と樹状突起とが正確にシナプス形成する事により、学習・記憶といった高度な情報処理を担う神経回路が構成される。このような正確な回路形成には、軸索誘導因子、細胞接着因子、特異的分子受容体など多くの分子が機能しているが、それらの合成と細胞内に於ける配置がどのような分子機構で制御されているかということは未だ詳細な理解がなされていない。本研究は、ショウジョウバエをモデルとして、線虫から脊椎動物まで幅広く保存されているセリン・スレオニンリン酸化酵素をコードする *unc-51* 遺伝子が、細胞内輸送制御を基盤として神経回路形成に重要な機能を有する事を *in vivo* で明らかにしたものである。これまでに、*unc-51* 遺伝子が単純かつ長大な軸索を有する運動神経において細胞内輸送を制御する事が示されてきたが、微細な中枢神経回路に於ける機能は未知であった。本研究はこれをさらに発展させ、ショウジョウバエ脳を材料として、キノコ体や触角葉の様な高度に発達した神経構造の構築過程にも細胞内分子輸送がきわめて重要な機能を有することを初めて明らかにしたものである。*unc-51* 遺伝子はヒトにも保存されており、ショウジョウバエをモデルとする本研究は、*unc-51* が発達した脳の神経回路形成に必須の機能を持つ事を示すものであり、ショウジョウバエにおける *unc-51* 依存的なシグナルカスケードの更なる分子遺伝学的解析によって、脳の形成と機能の理解に重要な手がかりを与えるものと期待される。

平成23年10月4日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。