

論文内容の要旨

申請者氏名 小林 憲太

動物の発生過程で生まれた神経細胞は、その後期過程において一部は生存し、残りはプログラム細胞死 (PCD) を起こす。一般的に、神経細胞の生死はその標的組織から供給される神経栄養因子に依存すると考えられている。低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho は、細胞の骨格、形態、運動、接着、軸索の退縮やアポトーシスなど、様々な細胞応答を制御している。セリン/スレオニンキナーゼである Rho-kinase は、Rho の標的タンパク質の一つであり、Rho の制御下で種々の機能を発揮している。In vitro における Rho/Rho-kinase シグナル伝達系の機能は詳細に解析されているが、in vivo におけるこのシグナル伝達系の役割は不明な点が多い。本研究では、脊髄運動神経細胞の発生における Rho/Rho-kinase シグナル伝達系の役割を解析した。運動神経細胞における Rho と Rho-kinase の活性を抑制するために、Cre-LoxP システムを用いて、RhoA のドミナントネガティブ変異体 (RhoA DN) あるいは Rho-kinase のドミナントネガティブ変異体 (Rho-K DN) を運動神経細胞に発現誘導したトランスジェニックマウス (RhoA DN マウスと Rho-K DN マウス) を作製した。発生初期の RhoA DN マウスにおいて運動神経細胞の発生を解析したところ、運動神経細胞の数が顕著に減少しており、この細胞数の減少はアポトーシスに起因することが明らかになった。また、運動神経軸索のパターニングには顕著な異常は認められなかった。発生初期の Rho-K DN マウスにおいても同様のことを検討した結果、RhoA DN マウスに類似した発生障害が認められた。さらに、Rho-K DN マウスを用いて、誘導されるアポトーシスのタイムコースを解析したところ、アポトーシスは発生初期の PCD が始まる前の時期に顕著に誘導されることが明らかになった。次に、発生後期の PCD が起こる時期においてもアポトーシスのタイムコースを解析した結果、Rho-K DN マウスでは、野生型マウスと比較してわずかにアポトーシスの誘導が促進されていることが明らかになった。また、運動神経細胞に神経栄養因子を供給する筋肉組織やシュワン細胞の発生には異常は認められなかった。以上の結果から、Rho/Rho-kinase シグナル伝達系は、発生過程における脊髄運動神経細胞の生存、特に発生初期における生存に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

論文審査結果の要旨

申請者 小林 憲太

動物の発生過程において、産生された神経細胞の一部は生存し、残りはプログラム細胞死をおこし一定細胞数に保たれる。一般的に神経細胞の生死はその標的組織にある神経栄養因子を奪い合うことにより、あるものは死に、あるものは生き残るという選別が行われるとされる。とくに運動神経細胞や知覚神経細胞の生死はこのようなシステムにより、一定数の細胞に調節されると信じられている。しかしこの仮説では神経突起が組織に到達してから競争によりプログラム細胞死が起こらなければならない。すなわち突起の筋肉への到達とともにプログラム細胞死が起こらなければならない。小林君は神経突起進展に重要な分子である低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho とその標的タンパク質 Rho-kinase のドミナントネガティブ変異体を運動神経細胞に発現させたトランスジェニックマウスを作成し、運動神経細胞の発生を詳細に調べることにより、脊髄運動神経細胞の細胞死が標的に到達するよりも以前に起こることを明らかとした。この結果は従来信じられてきた標的での栄養分子による選別より細胞死が起こることが早いことから、突起進展のきわめて早い時期にその選別が行われていることを示す。

以上のように、本論文は Rho/Rho-kinase シグナル伝達系が、脊髄運動神経細胞の発生過程での生存に重要な役割を果たしていることを示すもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。