

論文審査の結果の要旨

氏名 遠藤 瑞己

本論文は、外部光により生体内の軸索伸長方向を人為的に制御する、新規解析法の開発に関する研究結果をまとめたものである。

本論文は全5章からなる。第1章では、まず神経系や神経細胞について、解剖学や細胞生物学的観点よりその構造を解説したのち、神経回路の形成に際して、成長円錐と呼ばれる構造体が周囲の軸索誘導分子を認識し、軸索の伸長方向を探索していることを説明している。続いて、成長円錐上に存在する受容体タンパク質が誘導分子を認識した際に活性化する下流シグナルが軸索の伸長方向を決定する仕組みを概説し、さらに生体内においては、伸長方向が細胞外部に存在する細胞外基質や、近傍の細胞による物理的障壁により大きく影響を受けていることを指摘している。これらの軸索誘導の研究の現状と課題を概説し、課題克服のための一手段として、光を用いた軸索伸長の制御技術の必要性を述べている。本章は最後に、光を用いた既存のタンパク質活性制御法の原理や応用例について概説しており、続いて植物由来の光受容タンパク質（CRY2）が青色光吸収によって多量体を形成するメカニズムについて説明したのちに、CRY2を用いて軸索誘導を担う受容体タンパク質 DCC の活性を光制御する原理を提案している。

第2章は、本論文で用いた実験手法について記述している。具体的には、作製した線虫株と用いたプラスミドの作製手順、細胞培養法、生化学的実験や顕微鏡を用いた実験、及び実験結果の解析手法について説明している。

第3章は、CRY2を用いて作製する光応答性 DCC（PA-DCC）の作動原理と、それを用いた光による軸索誘導法の開発に関して記述している。まず、PA-DCC分子を HEK293T 培養細胞に導入し、光照射前後での多量体形成状態や、下流分子の活性化について生化学的手法を用いて評価している。次に、PA-DCC分子が軸索誘導能をもつかどうかを検証するために、当該分子をニワトリ胎児由来の後根節神経細胞に導入し、光照射前後で軸索の伸長方向の経時変化を観察している。観察結果を屈曲角という定量的指標を導入し解析することで、PA-DCC分子を導入した神経軸索が統計的に有意に光照射側へと屈曲することを結論づけている。

第4章は、開発した軸索の光誘導システムが生体内においても利用可能かどうかを、線虫を用いて検証している。線虫における光誘導システムの構築について、PA-DCC分子内の DCC を UNC-40 に置換することで PA-UNC-40分子を作製し

たこと、及び当該分子を導入することで作製したトランスジェニック線虫株の詳細について記述している。次に、作製した線虫株を用いて、生きた線虫体内の成長円錐に対して光誘導を試行している。実験結果の解釈に際し、新たに成長円錐の重心軌跡を用いた定量的解析手法を導入し、統計的に有意に成長円錐を光照射側へ誘引できることを実証している。本結果は生体内における軸索伸長を外部から人為的に制御した初めての手法であり、理学的研究の観点から大きな波及効果が期待できる成果である。本章では最後に、開発した光誘導技術を用いることで、生体内において成長円錐の可動方向が周囲の物理的障壁により制限される可能性について検証しており、神経索と呼ばれる他の神経細胞の軸索の束が、これに衝突した成長円錐の可動方向を神経索に沿った方向に制限していることを直接実証することに成功している。本実験結果は、光誘導技術を用いることで成長円錐の動態と周囲の環境との関連を直接実証可能であることを示しており、学術的意義が非常に大きいと判断した。

最終章である第5章は、本研究で開発された光を用いた軸索誘導技術の学術的意義、既存の分析法に対する利点、今後応用可能な研究対象、および将来的な研究展望について記述されており、研究全体を総括している。

なお本論文は、服部満氏、鳥谷部啓氏、大野速雄氏、上口裕之氏、飯野雄一氏との共同研究の成果をまとめたものであるが、論文提出者が主体となって実験およびデータ解析を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断した。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。