審査の結果の要旨

氏名　松山　真

本博士論文は、鶏肉腫白血病ウイルス（以下 ASLV と略）の宿主特異性を利用して、哺乳類脳における多数の神経経路に同時的かつ特異的に異なる遺伝子を導入する手法の開発を行ったものである。ASLV のエンベロープと鶏及び七面鳥に発現する受容体の多数の組合わせの中から、特異的感染を起す受容体-エンベロープの組み合わせを哺乳類培養細胞とラット大脳を用いて調べ、更にそれを用いて多経路選択的遺伝子導入法の実証実験を行った。その結果、以下のことを示した。

1. 哺乳類培養細胞を用いた *in vitro* 実験では、HEK293T 細胞（ヒト胎児腎細胞株）に ASLV の感染受容体 4 種類若しくは組み換えキメラ受容体 1 種類（DR-46TVB）を発現させた上で、ASLV のエンベロープタンパク質 4 種類（EnvA、EnvB、EnvC、EnvE）でシュードタイプした 4 種類のレンチウイルスベクターを培地に加え、各組み合わせにおける感染効率を測定した。その結果、全 24 通りの受容体-エンベロープ組み合わせの中から、4 つの組合わせ（TVA950-EnvA、TVBS3-EnvB、TVC-EnvC、DR-46TVB-EnvE）でのみ特異的感染が起こることを示した。またこれまで 1 種類のエンベロープとの特異的相互作用が報告されていた七面鳥の受容体 TVB^T で、特異性が厳密には保たれていないことを示した。

2. ラット大脳を用いた *in vivo* 実験では、ラット体性感覚野へと受容体遺伝子を搭載した逆行性に感染するレンチウイルスを 1 種類注入し、異なる ASLV のエンベロープでシュードタイプされた異なる蛍光タンパク質を発現するレンチウイルスの混合液を 3 週間後に視床に注入した。その結果、*in vitro* 実験で同定した 4 組の受容体-エンベロープの組合わせの内、*in vivo* 実験においては 3 組（TVA950-EnvA、TVBS3-EnvB、DR-46TVB-EnvE）で特異的感染を生じることを示した。

3. *In vivo* 実験によって特異的感染を示した 3 つの受容体を、逆行性に感染するレンチウイルスベクターによって投射先の異なる 3 つの視床皮質路に発現させ、ASLV のエンベロープでコートされたレンチウイルスを 3 種類混合して視床に注入することで、視床の局所領域において投射先の異なる神経細胞集団に異なる蛍光タンパク質を発現させることに成功した。

以上のように、本博士論文は、特異的に相互作用する鶏肉腫白血病ウイルスの受容体

-エンベロープを 3 組同定した上で、それを利用して哺乳類脳における新たな経路選択的遺伝子導入法の開発を行った。こうした経路選択的遺伝子導入法は、複雑な神経回路において各投射の機能的意義を探索する上で重要な方法論であると考えられるが、従来の限られた手法では 2 つまでの経路しか切り分けられないという限界があった。今回開発した手法は、1 個体においてより複雑な投射関係を持つ神経回路へと適応可能であって、特に非ヒト霊長類のように個体差を無視できない研究においてより重要性が高いと考えられる。そのため、本博士論文が確立した手法はその応用範囲が広く、今後の脳機能の更なる理解に貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。