

## 論文審査の結果の要旨

氏名 内藤 泰樹

本論文は、発生期の脳新皮質における神経細胞移動の分子メカニズムについて述べたものである。本論文は、序論、結果、考察、および材料と方法の各項目から構成されている。第1章は、序論の項であり、マウス脳新皮質の正常な形成における神経細胞移動の重要性を述べると共に、神経細胞の移動様式および移動に関与する分子機構について、過去の知見を概説している。特に、神経細胞移動における細胞骨格と細胞骨格上を移動するモーター分子の重要性を述べると共に、モーター分子のひとつである細胞質ダイニンの制御機構を研究対象とすることの重要性が記載されている。そして本論文において AMP 活性化キナーゼ(AMPK)に着目するに至った経緯、AMPK に関する過去の知見を概説している。第2章は、結果の項であり、本研究で得られた結果が記述されている。2-1章では AMPK、および活性化型 AMPK が発生期マウス脳新皮質において発現し、活性化型 AMPK が細胞内で中心体近傍に局在することを示している。さらに AMPK が微小管および細胞質ダイニンと細胞内で共局在することを示している。2-2章では子宮内電気穿孔法によりマウス胎仔脳に遺伝子導入を行い、神経細胞において AMPK を発現抑制することで神経細胞移動が障害されることを示している。2-3章では AMPK の発現抑制により、神経細胞移動において核移動の過程が障害され、その表現型がダイニン発現抑制による表現型と類似していることを示している。2-4章では共免疫沈降法により、AMPK とダイニン分子が相互作用をすることを示している。2-5章では培養神経細胞への AMPK 活性化剤、AMPK 阻害剤の暴露により、ダイニン複合体のサブユニットであるダイニン中間鎖のリン酸化がそれぞれ亢進、抑制されることを示している。さらに精製した分子を用い、AMPK がダイニン中間鎖を直接リン酸化することを示し、質量分析やリン酸化部位の変異体分子を用いたリン酸化解析により、そのリン酸化部位をセリン 81 番残基に特定している。2-6章では AMPK 阻害剤により培養細胞においてダイニンの輸送機能が抑制されること、さらにアミノ酸残基を置換した変異体を用いることによってセリン 81 番のリン酸化がダイニンの輸送機能に必要であることを示している。2-7章では変異体遺伝子をマウス胎仔に遺伝子導入するこ

とによって、ダイニン中間鎖セリン 81 番のリン酸化が神経細胞移動に必要であること、さらにダイニン中間鎖セリン 81 番のリン酸化模倣体の発現により AMPK 発現抑制による神経細胞移動障害が緩和されることを示している。第 3 章は考察の項であり、結果の解釈が述べられており、AMPK による神経細胞移動の制御に関して先行研究の結果との相違、ダイニン中間鎖のセリン 81 番のリン酸化がダイニンの機能に与える影響のメカニズム、神経細胞移動における AMPK、ダイニン分子の機能に関して議論している。第 4 章は結論の項であり、本論文における結論が述べられている。第 5 章は材料と方法の項であり、本研究で用いた実験手法について記載されている。第 6 章では本論文で引用した論文が記載されている。

マウス胎仔の脳新皮質において、神経細胞が移動する際は神経細胞の先端部分が伸長すると共に核が前方に移動し、これらのステップが神経細胞移動の中核である。細胞内には微小管と呼ばれる繊維が張り巡らされており、この微小管に沿って核を運搬する役割を細胞質ダイニンと呼ばれるモーター分子が担っている。本研究により、AMPK が、移動中の細胞に発現しており、AMPK の機能解析の結果、本分子が神経細胞の移動を担っていることを見出した。さらに、AMPK は細胞質ダイニンの特定のアミノ酸残基をリン酸化し、ダイニンの機能を正に調節することによって神経細胞の核移動に大きく寄与することが明らかになった。

従来、神経細胞移動に細胞質ダイニンが極めて重要な役割を果たしていることが知られていたが、その制御機構についての知見は皆無であった。本研究は細胞質ダイニンのリン酸化が神経細胞移動に重要であることを世界に先駆けて報告する研究であり、神経細胞移動の分子機序の理解を飛躍的に進展させると考えられる。したがって、本論文は学位論文として十分な内容を含んでいると判断された。

なお、本論文の内容は、浅田直之氏、Minh Dang Nguyen 氏、眞田佳門氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を立案・実行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。また、審査会において、本文の記述を増やして序論や結果をわかりやすくするように要求し、そのように本文が改訂された。以上を踏まえ、審査委員会は全員一致で合格と判断した。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。