

本論文では、ショウジョウバエのキノコ体をモデルとして神経軸索分岐 (axonal bifurcation) を制御する因子の探索及び機能を解析し、機能未知因子であった DISCO Interacting Protein 2 (DIP2) が関与している事を明らかにした。キノコ体の構造や発生様式、DIP2 に関する知見は第 2 章の序論で述べられている。多くの生物種において、神経細胞の軸索を分岐させて軸索枝を形成する事によって、各々の軸索枝が異なる領域に投射出来る様になり効率的かつ複雑な情報処理を行う事が可能となっている。しかしながら、軸索枝を形成する分子機構の全容は解明されておらず、特に成長円錐が 2 股に分かれる事によって軸索枝を形成するという軸索分岐による軸索枝形成機構に関しては殆ど解明されてこなかった。本研究では、遺伝学的・免疫組織学的手法によって軸索分岐形成における DIP2 の機能解析を行っている。第 3 章では実験に用いた材料及び実験手法が記載されている。

第 4 章では本研究の結果について述べられている。博士前期課程時の研究により、DIP2 をキノコ体特異的にノックダウンするとキノコ体のローブ構造に異常が生じる事が判明していた事から、論文提出者は DIP2 の変異体系統を樹立し、これらの変異体においてキノコ体の α/β ローブ特異的に異所性ローブが形成される事を明らかにした。本研究で用いた *DIP2* 変異体が機能欠失変異体である事は、抗 *DIP2* 抗体を作製しウェスタンブロッティング法によって確認している。また、免疫組織染色を行い、発生中の脳における *DIP2* の発現パターンを確認した所、*DIP2* がキノコ体のみならず中枢神経系全体で広範囲に発現している事が明らかとなった。次に、*DIP2* 変異体で観察された異所性ローブ形成の原因を明らかにする為、単一細胞をラベルした所、前述した形態異常はキノコ体ニューロンの軸索枝の過剰形成や投射異常に起因する事が明らかとなった。これらの表現型は AMP-synthetase ドメインを欠いた *DIP2* ではレスキューされなかった。以上の結果より、論文提出者は *DIP2* が AMP-synthetase ドメイン依存的に過剰な軸索枝の抑制や軸索枝の投射パターンを制御している事を遺伝学的解析により示したと言える。

次に、*DIP2* の下流で軸索枝制御に関与する遺伝子を探索する為、マイクロアレイ解析を行い *DIP2* の下流因子候補として *glaiKit* (*gkt*) を同定した。*Gkt* は phospholipase-D スーパーファミリーに属すると考えられており、上皮細胞の極性や神経発生に関与している事が報告されている。*DIP2* 変異体では *gkt* の mRNA 量が有意に減少する事、*gkt* をキノコ体特異的にノックダウンすると *DIP2* 変異体と同様の表現型を示す事、*DIP2* と *Gkt* の間に遺伝学的相互作用が見られた事から、論文提出者は *DIP2* と *Gkt* が同一経路でキノコ体の軸索枝を制御していると提唱した。加えて、既知の *Gkt* の相互作用因子の内、膜貫通タンパクである *crumbs* (*crb*) 及び MAGUK ファミリーに属する *stardust* (*sdt*) と遺伝学的相互作用が観察された。両因子は細胞極性決定因子としても知られている。

また、既知の軸索分岐・誘導関連遺伝子との遺伝学的相互作用の検討を行い、*Wnt5* 及

び c-Jun N-terminal kinase との遺伝学的相互作用の存在を示した。

これらの結果を元に、第 5 章ではキノコ体の軸索枝形成における DIP2 の機能について考察している。AMP-synthetase ドメインを持つ遺伝子の殆どが脂肪酸を基質としている事等から、DIP2 は脂肪酸を介して *gkt* の発現を制御し、Gkt が Crb 及び Sdt と相互作用をする事によってキノコ体ニューロンの細胞極性を制御し、適切な軸索分岐・軸索枝の投射を誘導するというモデルを提唱している。

本研究は、軸索枝形成において DIP2 が機能する事を初めて示したものである。また、多くの生物種で保存されているにも関わらず機能が未解明であった DIP2 の機能を明らかにしたといえる。

DIP2 はヒトを含む多くの生物種の神経系で発現している事から、本研究の結果が他の生物においても敷衍出来る可能性があると期待される。加えて、DIP2 と Gkt 及び細胞極性因子との相互作用による軸索分岐制御は全く報告されておらず、軸索枝の研究分野に新しい知見をもたらすものであり、これまで謎とされていた軸索分岐における細胞内分子機構の解明に大きな一歩をもたらすと予想される。なお、本論文は多羽田哲也博士等との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であるといえる。

従って、本論文は博士（理学）の学位に値するものと考えらる。