

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 伊藤 正芳

本論文「Systematic analysis of brain structure and neural network from a view of neuroblast lineages in *Drosophila melanogaster* (幹細胞の系譜から見たショウジョウバエの脳構造と神経ネットワークの体系的解析)」は5章からなっており、第1章:Summary、第2章:Introduction、第3章:Materials and Methods、第4章:Results、第5章:Discussionとなっており、研究報告の本体となる第4章は9つの節に分けられている。

発生中の脳で、神経幹細胞は非対称な分裂を続け、同じ幹細胞由来の神経細胞集団を作る。これら1つの幹細胞によって作られる細胞集団が成体の脳の複雑な神経回路ネットワークの形成にどのように関わっているかは、まだ分かっていない点が多い。ヒトやマウスをはじめとした哺乳類では、脳の細胞数が非常に多いことと、少数の幹細胞の子孫のみをラベルする実験手法の制約から、神経幹細胞由来の細胞集団に関する解析はあまり進んでいない。ショウジョウバエの脳は、視葉と食道下神経節を除いた大脳の神経細胞が片半球あたり1万5千個程度と少なく、これらは約100個の神経幹細胞に由来することが知られている。本論文では、個々の幹細胞に由来する神経細胞集団を脳の全域にわたって解析して、それらが作る神経投射について報告している。

本論文ではMosaic Analysis with Repressible Cell Marker (MARCM)法という実験法を用いて、胚の後期から幼虫初期に熱ショックによって少数の細胞に染色体の組み換えを起こし、約100個の神経幹細胞とそれに由来する神経細胞集団をランダムに標識した。このような脳のサンプル約5000個を解剖して、標識されたクローンの細胞体の位置と投射パターンを比較することで、96個のクローナルユニットを同定した。

第4章の第1~2節では、同定したクローナルユニットそれぞれの構造を詳細に報告した。第3節では、嗅覚系、視覚系、聴覚系、味覚系、運動制御系の各中枢に投射する神経が、限られた特定のクローナルユニットで形成されていることを示した。さらに既知の感覚/運動中枢に属さない高次の脳領域でも、中心複合体は投射野の12個のクローンによって主に形成され、これらのクローンはそれぞれが中心複合体の中の特異的な部分に投射していることや、PVLやPLP、SLP、SMPといった脳領域がクローナルユニット依存的な構造で作られていることを示した。

第4節では、これらクローナルユニットに見られる構造的特徴について報告している。クローナルユニットの細胞体は1つのクラスターを形成しており、細胞体クラスターからは、1本または少数の神経束が伸びて、クローンごとに特定の脳領域に投射していた。クローナルユニットの約80%は投射神経を含んでおり、残りは局所介在神経のみを含んでいた。また局所介在神経のクローンは脳の特定の場所にのみ見られた。

第5節では、脳の各部に投射するクローナルユニットの数を解析し、触角葉、キノコ体、

中心複合体などの脳領域は投射するクローナルユニットが少なく、その周囲の脳領域は多数のクローナルユニットによって形成されることを示した。

第 6 節ではクローナルユニットと神経束の関係について解析し、脳の同じ半球の異なる領域間を結ぶ神経束 128 種類、左右の半球を結ぶ交連神経束 22 種類を同定して、同側神経束は単一のクローンによって形成されるものが多く、交連神経束は複数のクローンで共有されているものが多いことを示した。

第 7 節では、クローナルユニットの投射と、発生学的にショウジョウバエの脳に存在する前大脳、中大脳、後大脳という体節区分について比較した。クローン間の投射範囲の重複度に基づいてクラスター分析を行ったところ、前大脳に属するクローンは主に 3 つのグループに分かれ、中大脳と後大脳に属するクローンも、固有のグループを作らずに前大脳とクローンと投射範囲が重複する 3 つのグループに分かれた。従って、発生学的な体節区分は成体脳の回路ネットワーク形成にあまり重要な役割を果たしていないことが分かった。

第 8 節では、クローナルユニットと神経伝達物質の関係性を解析した。半数以上のクローンには抑制性の GABA 神経が含まれており、モノアミン神経であるセロトニン、ドーパミンとオクトパミン神経は少数のクローンにのみ含まれていた。クローナルユニットの中には複数の神経伝達物質の神経を含むものが多く、クローンごとに特定の神経伝達物質の神経のみを作っているわけではないということがわかった。

最後に第 9 節では、脳の神経ネットワークを解析するために、同定したクローナルユニットを神経束と投射範囲の違いによって左右で合計 494 の投射グループに分け、各脳領域を結んだ神経投射のネットワーク図を作成した。各脳領域について、結合している他の脳領域の数、結合に関わっている投射グループの数を比較し、領域によって大きな差が見られることを示した。さらに脳領域を互いに密に連絡しているグループに分けるコミュニティ解析を行い、5 つの脳領域コミュニティを見いだした。これらのうち、中心複合体とキノコ体ではコミュニティ外の脳領域との結合に関わる投射グループがコミュニティ内の結合に関わる投射グループに比べ非常に少なく、脳の側方腹側領域、側方背側領域、中心複合体の周辺領域では、コミュニティ外の脳領域との結合に関わる投射グループが多かった。

以上をまとめると、論文提出者は本研究において、ショウジョウバエ脳の神経回路ネットワークを幹細胞の子孫細胞集団ごとに分けて解析し、脳全域にわたるクローン単位の神経回路構造を始めて明らかにした。また、これまで研究が進んでいなかった中心複合体やキノコ体以外の複雑な脳領域にもクローナルユニット依存的な構造を発見し、これらの脳領域の神経回路構造を理解するための重要な知見を提供した。これらの結果は、神経解剖学、発生学、ニューラルネットワーク解析において有意義な貢献をするものと認められる。

なお、本論文は伊藤啓、増田直紀、四宮一範、遠藤啓太との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究の立案、遂行を行っており、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものであると認定する。