

審査の結果の要旨

氏名 森本（鈴木） 菜央

大脳発生において、幹細胞である神経系前駆細胞がいかにして、多種のニューロンやグリア細胞を産み出し、大脳を構築していくかは未だ不明な点が多く残されている。認知、思考や行動などの様々な機能は、哺乳類大脳新皮質において、部位ごとに担われることが知られている。さらに、機能に応じて、部位ごとに存在するニューロンの構成比や数が異なることも知られている。従って、各ニューロン数は驚くほど厳密に制御されていると思われる。このことはすなわち、神経系前駆細胞が産み出すニューロンの種類を変えるタイミングが厳密に決まっていることに基づくと考えられる。しかしながら、神経系前駆細胞の具体的な運命転換のメカニズムやそのタイミングの制御機構についてはほとんどわかっていない。本論文においては、ポリコーム群タンパク質複合体 (PcG) による転写因子 **Fezf2** の転写抑制により、V層 **CTIP2** 陽性ニューロン（皮質外投射ニューロン）の産生時期が終了する可能性を見出だした。ニューロン分化期内の神経系前駆細胞の運命転換に関わる内因性の分子メカニズムのひとつを明らかにした。

本論文は以下の4章により構成されている。

第一章は序論であり、本論文の背景と目的を述べている。大脳新皮質においてニューロンの数が領域ごとに厳密に制御されている可能性を指摘し、さらに、その制御にポリコーム群タンパク質複合体が関与する可能性を指摘している。その上で、ポリコーム群タンパク質複合体によるニューロンの数の制御を検討することにした経緯を述べている。

第二章では方法を述べている。

第三章は、結果であり、3節で構成されている。

一節ではポリコーム群タンパク質複合体必須構成因子 **Ring1B** の条件的遺伝子破壊を行ったマウス大脳新皮質と野生型マウス大脳新皮質とを比較することで解析し、**Ring1B** がV層 **CTIP2** 陽性ニューロンの数を制御することを見出し

た。また、Ring1B の条件的遺伝子破壊を分化後のニューロンに限定し解析したところ、遺伝子破壊マウスと野生型マウスにおいて V 層 CTIP2 陽性ニューロンの数に変化はなかった。このことから、Ring1B は、神経系前駆細胞において、ニューロンの数の制御を行っていることが示された。さらに、Ring1B を遺伝子破壊したとき、未成熟なニューロン分化促進は観察されなかったこと、野生型においては V 層 CTIP2 陽性ニューロン産生が終了している時期においても Ring1B 欠損マウス大脳新皮質では V 層 CTIP2 陽性ニューロンを産み出していることから、Ring1B は神経系前駆細胞の分化運命転換のタイミングを制御することで V 層 CTIP2 陽性ニューロンの数を制御していると結論づけている。

二節では、ポリコーム群タンパク質複合体が V 層 CTIP2 陽性ニューロン産生の終了を制御するときのターゲット遺伝子を見出した。Ring1B 欠損マウス大脳新皮質由来の細胞において、転写因子 Fezf2 の発現が上昇していること、さらに、Fezf2 プロモーター領域において、V 層 CTIP2 陽性ニューロン産生が終了する時期に、Ring1B 量、ヒストン H3K27me3 修飾量が増加することを見出した。これらの結果から、Fezf2 がポリコーム群タンパク質複合体の直接のターゲットであることを結論づけている。

三節では、ポリコーム群タンパク質複合体による Fezf2 の抑制が *in vitro* 培養系においても培養時間依存的に行われることを述べている。V 層 CTIP2 陽性ニューロン産生の終了の時期は、視床からの軸索が大脳新皮質内に投射してくる時期と一致している。従って、視床からの軸索投射の下流で、ポリコーム群タンパク質複合体が Fezf2 の抑制を行っている可能性も考えられる。そこで、Fezf2 の抑制が他の細胞種からのシグナルを必要としているのかを検討するために *in vitro* 培養系を用いて、ポリコーム群タンパク質複合体が Fezf2 の抑制を行っているかを検討した。用いた *in vitro* 培養においては、大脳新皮質以外の細胞を排除することが可能である。その結果、まず、*in vitro* 培養系においても、CTIP2 陽性ニューロン産生の終了と同じ時期に、Fezf2 の発現が低下すること、さらに、このとき、Fezf2 プロモーター領域において、Ring1B 量、ヒストン H3K27me3 修飾量が増加することを見出した。さらに、Ring1B あるいは Ezh2 の条件的遺伝子破壊を行い、培養時間依存的な Fezf2 抑制、CTIP2 陽性ニューロン産生の終了にポリコーム群タンパク質複合体が必要であることを示した。従って、ポリコーム群タンパク質複合体による Fezf2 の抑制は、細胞内因的なプログラムである可能性が示された。

第四章では総合的な考察を行っている。

以上のように、本論文により、ポリコーム群タンパク質複合体が神経系前駆細胞において、発生の時間をはかり、適切なタイミングで V 層 CTIP2 陽性ニュー

一ロン産生を終了させることに貢献することが明らかになった。これにより、発生時期依存的な分化運命転換の内因性のメカニズムに迫ることができる。本研究は脳新皮質の正常な組織構築の理解に大きく貢献するばかりではなく、iPS 細胞などの多能性細胞を目的の細胞へと正しく分化させるという再生工学的な側面からも重要な研究であると言える。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。