

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 阿部 崇志

記憶や学習といった脳機能が発揮されるためには、神経回路構造が適切に構築されることが必要であるが、個々の神経細胞の軸索が正しく投射・伸長することが前提となる。**Rac-Cofilin** 経路は細胞骨格の再編成を通して、神経軸索の伸長を制御する。**RacGTPase (Rac)** は下流の **Pak-kinase (Pak)**、**LIM-Kinase (LIMK)** によって伝達される **Rac-Pak-LIMK** 経路を制御し、**F-actin** の切断・脱重合を行う **Cofilin** に対し抑制的に働くことで、**actin** 骨格再構成を介した軸索伸長を抑制する（古典的経路）。一方、**Rac** は **Pak** 非依存的な経路を介して軸索伸長において促進的に機能することも示唆されていた。しかしながら、後者の非古典的 **Rac** 経路が、最終的に **Cofilin** 依存的な **actin** 骨格の制御に寄与することで軸索伸長を促進しているのかどうかは明らかではなかった。また、**actin** 骨格や **Cofilin** のリン酸化状態の内在性レベルでの変化を、同一個体内の発生過程の神経軸索において同時に検出するという試みは、これまでどの生物種においても報告されていなかった。以上の課題に解を与えることを目的に、ショウジョウバエの **Sickie** 遺伝子の機能解析を行った本論文は、第1章：序論、2章：材料および方法、3章：実験結果、4章：考察、5章：結論の5章から構成されている。

論文提出者は序論において、上述の問題を提起し、これらを明らかにするために、遺伝学的操作法が発達したショウジョウバエの脳に存在するキノコ体神経が優れた実験系の一つであることを概説している。次に、現在までに明らかになっている軸索伸長制御におけるシグナル伝達経路の制御機構について説明している。

材料および方法の章では、用いたショウジョウバエ系統や試薬、遺伝学的操作方法、結果の具体的な評価方法、解析方法について説明している。

実験結果、考察の章では、今回、神経軸索の伸長制御因子として新たに同定した **Sickie** 遺伝子が、ショウジョウバエキノコ体の神経軸索伸長を細胞自律的に正に制御し、その制御は非古典的 **Rac-Cofilin** 経路を介していることを示唆す

る結果を提示している。以下詳細を述べる。*Sickie* は F-actin に富む新生のキノコ体神経軸索において特に顕著な発現が観察され、変異体は軸索伸長異常の表現型を示し、キノコ体特異的に *Sickie* の transgene を発現させることでレスキューされることを明らかにしている。また、種々の制御因子との相互作用の検証の結果、Rac-Cofilin 経路の構成因子と密接な遺伝学的相互作用を示すことを述べている。MARCM 法による解析によって、同一個体の脳内で F-actin と不活性型 Cofilin の発現レベルの変化を同時検出することで、*sickie* や Rac-Cofilin 経路構成因子の変異体の神経軸索では、これらの発現レベルが変化していることを、生体脳の実験系で初めて示している。また、*sickie* 変異体の発生過程の脳では、不活性型 Cofilin の発現レベルが上昇し、同変異体下で Cofilin の機能亢進を誘導すると表現型が緩和することを発見している。さらに、Cofilin 抑制因子 LIMK の強制発現の表現型が *Sickie* の強制発現により抑制できるが、Cofilin の脱リン酸化による活性化を担う Slingshot の変異体下では抑制できないことや、Ssh または Pak 非依存的 Rac の LIMK 強制発現に対する抑制作用が *sickie* 変異体下では正常に発揮されないことを明らかにしている。最後に、微小管関連因子との関連も解析し、EB1, β -tubulin と遺伝学的相互作用を示すことを報告している。

結論の章において、上記の結果と考察を総合し、*Sickie* は非古典的 Rac 経路を介し、Ssh-Cofilin 経路依存的な F-actin の再編成に関わり、微小管制御因子と相互作用することで神経軸索伸長を制御する新たなモデルを提唱し、このモデルを支持する結果を整理して列挙している。

以上の結果と考察は、脳神経回路の形成において、本研究で同定された *Sickie* が重要な役割を果たしていることを示している。今回の成果は、脳の高次機能発現の物理的基盤である、中枢神経系の回路形成制御機構の理解の一助となると考えられる。本論文の1～5章は、多羽田哲也、山崎大介、村上智史、廣井誠、新田陽平、前山有子との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、審査委員全員一致で博士（理学）の学位を授与できると認める。