

氏名 奥村美紗子

本論文は神経回路形成におけるチューブリン折りたたみ補因子と *Dscam* の機能についての研究成果を述べたものである。神経回路の形成は、遺伝的にプログラムされており、その分子メカニズムは依然としてすべては解明されていない。神経の形態は、細胞膜分子やガイダンス受容体、下流のシグナル経路、細胞骨格分子などが関連し合って制御されている。学位申請者は、ショウジョウバエの嗅覚系神経回路をモデルに用い、チューブリン折りたたみ補因子 *D (Tubulin folding cofactor D (TBCD))* がダウン症細胞接着分子 (*Down syndrome cell adhesion molecule (Dscam)*) と相互作用し、神経突起形態形成に必要であることを解明した。

ショウジョウバエ嗅覚系投射神経の樹状突起は、触角葉に存在する約 50 個の糸球体のうち、単一の糸球体へと投射する。また、投射神経の軸索はキノコ体、側角へと伸長し、側角において L 型の枝分かれを持つ。申請者は、遺伝学的モザイク解析法 (MARCM 法) を用いることによって、神経細胞の形態を脳内において、単一細胞レベルで可視化、操作し、変異体の表現型解析を行った。申請者は投射神経の形態形成に関わる分子を同定するために、候補遺伝子として *dachsous (ds)* の変異体表現型解析を行い、樹状突起と軸索の形態に異常が生じることを見出した。しかし、その表現型は *ds* の変異によるものではなく、バックグラウンドに存在する他の遺伝子の変異によるものであったため、原因遺伝子の同定を行っている。マッピングによりチューブリン折りたたみ補因子 *D (Tubulin folding cofactor D (TBCD))* が原因遺伝子であることを見いだした。

*TBCD* は  $\beta$ -チューブリンと結合しその折りたたみを補助し、チューブリン二量体形成に不可欠な分子である。*TBCD* 変異ホモ接合体投射神経 (*TBCD<sup>1</sup> PN*) では、樹状突起が一つの糸球体ではなく複数の糸球体へと投射する異常がみられ、さらに軸索は短くなっていた。これらの表現型は *TBCD* の cDNA を発現させることによってレスキューすることを確認している。*TBCD<sup>1</sup> PN* の表現型を発生過程において観察したところ、蛹期中期までは野生型と同様に *TBCD<sup>1</sup> PN* の軸索はキノコ体と側角へ伸長しているが、蛹期後期または羽化直後から軸索が退縮していた。これらの結果から *TBCD* は投射神経の樹状突起の枝分かれの制御と軸索の維持に必要であることを明らかにした。申請者は他のチューブリン折りたたみ補因子 *TBCB* や *TBCE* も投射神経の形態形成に必要であることを示している。さらに、*TBCD* の過剰発現によっても、樹状突起の異常な枝分かれを引き起こすことから、適切な量のチューブリン折りたたみ補因子が投射神経の形態形成に不可欠であることを示唆している。

次に *TBCD* の変異が微小管に与える影響を検討した。myc タグした  $\beta$ -チューブリンを野生型と *TBCD<sup>1</sup> PN* で発現させると、野生型では  $\beta$ -チューブリン myc は細胞体、樹状突起と軸索でシグナルが観察された。一方 *TBCD<sup>1</sup> PN* では  $\beta$ -チューブリン myc の発現は大きく減少していた。これらの結果から *TBCD<sup>1</sup> PN* では微小管の形成または維持に異常が生じ、微小管の異常により樹状突起の枝分かれ異常と軸索退縮を引き起こしていると考えられる。

神経細胞において *TBCD* がどのような分子によって制御されているか不明であったため、酵母ツーハイブリッド法により、*TBCD* と相互作用する分子の同定を行った。神経細胞の突起形成において細胞膜分子が重要な働きをすることから、細胞膜分子の一つであるダウン症細胞接着分子 (*Down syndrome cell adhesion molecule (Dscam)*) に着目した。*Dscam* はイムノグロブリンファミリーに属する一回膜貫通分子であり、神経発生において重要な役割を担っていることが報告されている。ショウジョウバエ培養細胞である S2 細胞に *TBCD* と *Dscam* を発現させ、免疫共沈降実験を行うことにより、*Dscam* と *TBCD* が物理的に結合することを確認した。さらに投射神経と

キノコ体神経の形態形成において TBCD と Dscam が相互作用していることを明らかにした。

本論文で申請者は TBCD が投射神経とキノコ体の形態形成において機能することを示した。TBCD と他のチューブリン折りたたみ補因子が適切な量発現することによって、微小管の形成または維持を調整し、正しい神経突起形成を可能にしている。さらに TBCD は Dscam と結合し、投射神経とキノコ体神経において遺伝的に相互作用していることから、TBCD は Dscam の下流で機能し、Dscam のシグナルを伝えることによって微小管を制御していると考えられる。TBCD の神経系での働きはこれまで知られておらず、本論文は TBCD が神経突起形成において機能することを初めて示している。Dscam はヒトのダウン症への関与が示唆されており、TBCD はダウン症による神経回路の変化の解明に新たな洞察を与える可能性をもつ。

よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。

[別紙3]

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

氏 名 奥村 美紗子

試験担当者全員は 奥村 美紗子 に対し、論文の内容およびその関連事項に関し、  
種々試問を行った結果、合格 と判定した。