

氏名	きっかわ たかこ 吉川 貴子
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 25 年 9 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	<i>Dmrt</i> family genes regulate embryonic cortical neurogenesis in Pax6-dependent and -independent manners (<i>Dmrt</i> ファミリー遺伝子は Pax6 依存のおよび非依存的に胎生期大脳皮質の ニューロン新生を制御する)
論文審査委員	主査 教授 大隅 典子 教授 五十嵐 和彦 教授 中山 啓子

論文内容要旨

The transcription factor Pax6 controls cell proliferation and neuronal differentiation in the developing mammalian neocortex by regulating the expression of its target genes. Using microarray analysis, we observed the downregulation of *Dmrta1* (*double-sex* and *mab-3* related transcription factor-like family A1) in the telencephalon of *Pax6* homozygous mutant rats (*rSey²/rSey²*), except for in the medial cortical region, which was negative for Pax6. *Dmrta1* expression was restricted to the neural stem/progenitor cells in the dorsal telencephalon and was expressed in early-born neurons in the Pax6-negative medial cortical region. These observations raise the possibility that *Dmrta1* is regulated by Pax6-dependent and -independent pathways in specific cortical regions. Within the Pax6-dependent *Dmrta1* pathway, the overexpression of *Dmrta1* induced the expression of the proneural gene *Neurogenin2* (*Neurog2*) and, conversely, repressed *Ascl1* (*Mash1*), a proneural gene expressed in the ventral telencephalon. It was also observed that another *Dmrt* family molecule, *Dmrt3*, induced *Neurog2* expression in the dorsal telencephalon. Therefore, *Dmrt3*, whose expression pattern overlapped with that of *Dmrta1*, may compensate for the loss of *Dmrta1* function downstream of Pax6 in cortical regions. Corticogenesis, another function of *Dmrta1* that is independent of Pax6, was unexpectedly normal in *Dmrta1* knockout (KO) mice, except for a reduction in the number of Cajal-Retzius (CR) cells. These novel findings suggest that *Dmrt* family members are involved in the regulation of proneural genes downstream of Pax6 and are crucial for the production of CR cells independent of Pax6.

審査結果の要旨

博士論文題目 *Dmrt* family genes regulate embryonic cortical neurogenesis in Pax6-dependent and-independent manners (*Dmrt* ファミリー遺伝子は Pax6 依存性的および非依存的に胎生期大脳皮質のニューロン新生を制御する)

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 発生発達神経科学 分野

氏名 吉川 貴子

脳高次機能の獲得には、胎生期の脳皮質形成過程において神経幹細胞の増殖と分化が制御され、多様なニューロンが必要な数だけ生み出されることが必要である。転写因子 Pax6 は胎生期において将来大脳皮質となる終脳背側領域の未分化な神経幹細胞に発現しており、神経幹細胞の増殖と、ニューロンへの分化の促進という相反する事象に関与していることが報告されているが、Pax6 という1つの因子が神経幹細胞の未分化性維持と神経細胞の分化の両面をどの様に制御しているかはいまだ不明な点が多い。そこで神経分化過程に関わる Pax6 の下流遺伝子を同定するために、マイクロアレイ解析を用いて Pax6 変異ホモ接合ラット胚終脳において発現が顕著に減少する遺伝子 *Dmrt*1 (*doublesex* and *mab-3* related transcription factor like family A1) を同定した。*Dmrt* 遺伝子がコードするタンパク質は DNA 結合領域である DM ドメインを持つ転写因子である。*Dmrt*1 は胎生期の脳皮質に発現しているにもかかわらず、哺乳類神経発生における機能はこれまで全く報告されていない。そこで、*Dmrt* 遺伝子の脳発生過程、特にニューロン分化における機能についての知見を得るために、電気穿孔法と全胚培養法を組み合わせた遺伝子導入法を用いた *Dmrt*1 の過剰発現実験を行ったところ、興奮性神経細胞の分化制御を担う *Neurog2* の発現の誘導および抑制性神経細胞の分化制御を担う *Ascl1* の発現の抑制が認められた。さらに *Dmrt* 遺伝子ファミリーに属する *Dmrt*3 および *Dmrt*1 に特異的な siRNA を用いてこれらの機能を阻害すると、*Neurog2* 陽性細胞の数が減少したことから、Pax6 依存的に *Dmrt*3 と *Dmrt*1 が協調的に皮質ニューロン分化に関わっている可能性が示唆された。哺乳類の脳皮質は神経細胞の構築から 6 層構造を呈し、どの層のニューロンになるかという細胞運命の決定は、それぞれのニューロンが産生された時期に依存する。過去の報告より、脳皮質特異的 Pax6 KO マウスにおいて層構造に異常が認められることが示されていたが、*Dmrt*1 KO マウスにおいて層構造に変化は認められなかった。しかしながら、脳皮質においてもっとも早く分化するニューロンであるカハールレチウス細胞は *Dmrt*1 KO マウスにおいて減少していた。この結果より、Pax6 非依存的に *Dmrt*1 が脳皮質神経細胞の時期特異的な分化に関与していることが明らかになった。

本論文前半部の *Dmrt* ファミリー遺伝子が Pax6 依存的に神経細胞への分化制御を担うプロニューラル遺伝子を制御する知見については、基礎論文として既に *Genes to Cells* (Vol. 18 No. 8) に掲載されている。またカハールレチウス細胞の分化制御は神経発生学において注目を集めている分野でもあり、本研究で得られた *Dmrt*1 がカハールレチウス細胞の発生を制御する結果は、脳皮質発生のメカニズムにこれまでにない重要な知見である。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。