

氏 名 和 田 圭 樹

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第473号

学位授与の日付 平成12年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Dorsal spinal cord inhibits oligodendrocyte
development

論 文 審 査 委 員 主 査 教 授 重 本 隆 一
教 授 池 中 一 裕
助 教 授 森 泰 生
助 教 授 小 野 勝 彦 (島根医科大学)

論文内容の要旨

Oligodendrocytes are the myelinating cells of the rodent central nervous system. In the mouse spinal cord, oligodendrocytes are generated from strictly restricted regions of the ventral ventricular zone. To investigate how they originate from these specific regions, he established an explant culture system of embryonic days 12 (E12) mouse cervical spinal cord and hindbrain, named flat whole-mount preparation. Alpha subunit of the receptor for platelet derived growth factor (PDGFR α) mRNA-expressing cells, which are the major progenitors of oligodendrocytes in the spinal cord, were first detected in the ventral half of the explant near the ventral midline of the cervical spinal cord, and subsequently distributed dorsally. When he cultured the ventral and dorsal cord separately, a robust increase in the number of PDGFR α positive cells was observed in the ventral fragment of the cervical spinal cord. The number of proliferating cells, mainly Musashi positive neuroepithelial cells increased in the ventral fragment, suggesting that factors from the dorsal spinal cord inhibit a step switching the cells from proliferating stage to differentiating stage. The increase in numbers of immature and mature oligodendrocytes in the ventral fragment suggests that these factors also inhibit oligodendrocyte maturation. Bone morphogenetic protein 4 (BMP4), a strong candidate for this factor, which is secreted from the dorsal spinal cord, did not affect oligodendrocyte development. Previous studies demonstrated that signals from notochord and the ventral spinal cord, such as sonic hedgehog and neuregulin, promote the ventral region specific development of oligodendrocytes. His present study showed that the dorsal spinal cord negatively regulate oligodendrocyte development. These results, in conjunction with the previous studies, indicate that glial cell development is regulated along the dorso-ventral axis similarly to the dorso-ventral organization of spinal cord neurons.

論文の審査結果の要旨

稀突起膠細胞 (oligodendrocyte) は、中枢神経系において髄鞘 (myelin) を形成するグリア細胞である。中枢神経系の発生過程において、従来 oligodendrocyte は、最も遅い時期に形成されると考えられていた。しかし、最近、マウスの脊髄においては、これらの細胞が最初の神経細胞が出現するのとほぼ同時期に極めて限定された腹側領域から発生する事が、oligodendrocyte 前駆細胞マーカー (PDGFR α) を利用することによって明らかとなった。この領域からは体性運動神経細胞も発生する事が知られているが、この細胞は内臓性運動神経細胞や各種介在神経細胞などと同様、背腹側軸にそって特異的に発生領域が限局化されている。これらの神経細胞の発生は、腹側、背側それぞれから由来するシグナル因子によって厳密にコントロールされていると考えられている。これらの因子の中には、腹側の notochord や floor plate より分泌される Shh のように、腹側領域の神経細胞の発生を誘導するとともに、oligodendrocyte の分化の決定にも関与していると言われているものがある。しかしながら、oligodendrocyte の発生に関わる背側因子の存在については、現在まで全く知られていなかった。

申請者は、oligodendrocyte の発生に関わる背側因子について検討するため、胎生 12 日のマウスより頸髄および尾側菱脳を取り出し、中心管の背側で切断し開きにしたのち、脳室側を下にして平面上で培養するという (Flat whole-mount preparation) 組織培養系 (explant) を確立した。PDGFR α の mRNA を発現する oligodendrocyte 前駆細胞は、explant においてまず腹側中心線付近の頸髄腹側部で検出され、そののち背側に分布した。explant の腹側部と背側部を切断後、別々に培養したところ、頸髄腹側部では PDGFR α 陽性細胞が切断しないコントロールに比べ約 1.6 倍と顕著に増加した。pre-myelinating oligodendrocyte のマーカーである O4 の陽性細胞や成熟 oligodendrocyte のマーカーである O1 の陽性細胞も増加したが、O4 陽性細胞の増加率が 4 倍にとどまったのに対し、O1 陽性細胞の増加率は 9 倍であった。また、未分化な神経上皮細胞 (neuroepithelial cell) のマーカーである Musashi の陽性細胞も頸髄腹側部で増加していたのに対し、神経細胞のマーカーである MAP-2 の陽性細胞は減少していた。PDGFR α 陽性細胞の増加が背側部からの因子によることは、腹側部を別の explant の背側部と接して培養すると増加が抑制されることで確認された。これらの結果は、背側部からの因子が、neuroepithelial cell から神経細胞への分化を促進する一方、oligodendrocyte 前駆細胞への分化を抑制し、さらに oligodendrocyte の成熟化も抑制している可能性を示唆する。このような因子の候補として背側神経管から分泌され、星状膠細胞の分化を促進することが知られている BMP4 が考えられたため、BMP4 および BMP4 の作用を阻害する Noggin の腹側部 explant に対する作用を検討したが、有意な変化は認められなかった。

本論文では、oligodendrocyte の発生に関わる背側因子について同定までには至らなかったものの、従来、腹側より分泌される促進性の因子のみが知られていたのに対し、初めて背側に由来する抑制性の因子の存在を示唆したことは、大きな意義を有すると認められる。従って、学位論文として十分ふさわしい内容であると審査委員会において全委員一致で判定した。

本論文に関する学問的背景や関連分野の研究動向についての審査委員による口頭試問を行った結果、いずれも的確な応答が得られ、学位授与にふさわしい知識と学力を有していると判定された。本論文は分かりやすい英語で書かれており、また、この内容の主な部分は、既に申請者を筆頭著者とする英語論文として国際誌に投稿済みであり、英語力も十分なものであると判定した。以上、総合的に判断し学位を取得するに足る水準に達していることが全審査委員一致で認定された。