

氏 名 畑 克 介

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第604号

学位授与の日付 平成14年3月22日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Analysis of the Expression and Function of Ciliary
Neurotrophic Factor (CNTF) in the Developing
Nervous System

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 野田 昌晴
教授 山森 哲雄
教授 上野 直人
教授 長濱 嘉孝

論文内容の要旨

Ciliary neurotrophic factor (CNTF) attracts much attention, because it is a unique member of the interleukin-6 (IL-6) family whose receptor subunit for ligand binding is exclusively expressed in the nervous system and muscle. CNTF supports survival and differentiation of various types of neurons and glial cells *in vitro*. The role of CNTF as a moderate neurotrophic factor on mature motor neurons has been demonstrated. However, its role in embryonic development remains unknown. He examined expression patterns of the IL-6 family members and their receptors during the rodent embryonic development, and found a specific expression of CNTF in the pineal gland and eyes. *In vitro* assays showed that newborn rat pineal extract supports some specific neurotransmitter/neuropeptide gene expressions [including substance P (SP) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP); the gene expression of these peptides is known to be induced by CNTF *in vitro*] and survival of newborn rat sympathetic neurons. In contrast to the *in vitro* results, sympathetic innervation of the pineal gland in CNTF-deficient mice showed no apparent difference from that of wild-type mice. There were few preprotachykinin-A (SP precursor protein) and VIP-positive neurons among sympathetic neurons that innervate a pineal gland. These few VIP-positive neurons in superior cervical ganglion were not different in number between adult CNTF knockout and wild-type mice, implying that the CNTF signal in pineal glands may be usually unavailable for innervating sympathetic neurons. Finally, He discusses the role of CNTF on the photoreceptor development in pineal organ of different species.

論文の審査結果の要旨

神経系には種々の細胞外因子が存在し、神経細胞の種々の機能を制御している。その代表的なものは、NGF を代表とする Neurotrophin ファミリーであるが、もう一つ有名なものに LIF (leukemia inhibitory factor)や CNTF(ciliary neurotrophic factor)が属する IL-6ファミリーがある。LIFとCNTFは、それぞれ培養交感神経細胞の表現型をコリン作動性に転換するコリン作動性分化因子及び毛様体栄養因子として分離されたものであるが、種々の神経細胞やグリア細胞に対して様々な特異的作用を有する。しかし、その生体に於ける機能としては、成熟個体の神経損傷に対する修復機能に関与することが言われてきたが、神経系の発生に関する役割については、その発現が検出されないことから否定的見解が強かった。

申請者は、IL-6 ファミリーの主要なものについて、げっ歯類の神経系の発生に於ける発現パターンを *in situ hybridization* 法を用いて詳細に調べた。その結果、CNTF が松果体と眼(レンズ上皮)において特異的に発現することを見出した。従来、CNTF は神経系の発生時には殆ど発現しないとされてきたことから、申請者は CNTF が確かに松果体に存在することを示す為に、免疫組織化学的、及び免疫化学的方法により胚発生時から新生仔の松果体における CNTF の存在を証明した。更に、CNTF 活性の一つとして知られる、培養交感神経細胞にたいするコリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)、サブスタンス P(SP)、VIP (vasoactive intestinal polypeptide)遺伝子の転写誘導活性を調べた。その結果、松果体抽出液中に、上記伝達物質や神経ペプチドの誘導活性が存在すること、それが、CNTF 抗体の添加によって阻害される事を示した。また、ラット新生仔松果体抽出液を培養交感神経細胞に加えると、NGF 非存在下でもその生存活性を NGF 存在下と同程度保持させる事を見出した。従来、CNTF は、培養交感神経細胞に対して、NGF 存在下では神経細胞死をもたらすとの報告があったが、松果体抽出液に CNTF 抗体を加えてその作用を調べた結果、CNTF 抗体は松果体抽出液中の培養交感神経細胞の生存活性を有意に低下させることが明らかとなった。従って、松果体における CNTF は、アポトーシス因子というよりは、むしろ他の因子と協調して交感神経細胞の生存を高めることを示している。

以上、申請者の研究は、これまで知られていなかった CNTF の中枢神経系の発生時に於ける発現を明らかにするとともに、その機能の解明に新しい視点をもたらすものであり、学位授与に値すると判定した。

学位論文として提出された研究結果について申請者による口頭発表後、審査委員が論文の内容、次いで関連研究分野の一般的知識とその背景となる基礎的知識について口頭試問により審査を行った。これらの試問に対する申請者の応答はいずれも明解かつ的確であった。これらの結果をもとに、審査委員会は申請者が学位取得に十分な学識と研究遂行能力をもつものと判定した。

英語の能力に関しても、既に発表されている論文などから、博士の学位に足る十分な能力を有するものと判定した。