

氏 名 中 平 英 子

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第696号

学位授与の日付 平成15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 The Origin of Oligodendrocyte in Mouse Forebrain

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 川口 泰雄
教授 池中 一裕
教授 重本 隆一
助教授 小野 勝彦 (島根医科大学)

論文内容の要旨

Oligodendrocytes (OLs) are myelin-forming cells in the central nervous system. Although the function of OLs is well studied in the adult nervous system, little is known about the embryonic origin of this cell type, especially in the cerebral cortex. There were no direct methods to identify the origin of OLs, because OL progenitors are highly migratory and mitotic. In this study, she established a permanent cell labeling system, named Cre-Ep assisted with in utero DNA electroporation and a Cre reporter strain of mouse. Using this new system, she labeled cells surrounding the lateral ventricle of the forebrain in a ventral- or dorsal- specific manner, and traced their cell fate to adult. Many OLs were detected in the adult cerebral cortex originating from the subpallial ventricular zone, but there were no OLs of pallium origin, indicating that most, if not all, myelinating OLs in the cortex originate from the ventral forebrain. There were two distinct populations of migrating OL lineage cells observed in the cortex. The first wave of OL progenitor migration was observed in the intermediate zone (IZ) at E16. These cells expressed platelet derived growth factor receptor α subunit (PDGFR α) as a marker, arose from the ventral neuroepithelium at early embryonic days, and tangentially migrated into the cortex through the IZ rather than the subventricular zone (SVZ) or ventricular zone. The second wave of migration was found by Olig2⁺/PDGFR α ⁻ cells, which migrated tangentially within the cortical SVZ at E16. These cells seems may become PDGFR α ⁺ within the SVZ by E18, and radially migrate towards the cortical plate.

論文の審査結果の要旨

オリゴデンドロサイトは中枢神経系でミエリンを作るグリア細胞である。その機能はかなりよくわかっているが、それがどのようにして発生してくるかはまだはっきりしていない点が多い。大脳皮質のオリゴデンドロサイトは、特異的マーカーを利用した組織学的解析から、前脳腹側部で発生し、正接方向に移動し皮質に拡がっていくと推測されているが、これを支持しない所見もある。皮質オリゴデンドロサイトの生成部位や、そこからの移動様式が今までよくわかっていない理由のひとつは、オリゴデンドロサイト前駆細胞は細胞分裂が盛んで移動性が高く、標識して移動を追跡する優れた方法がなかったためである。本研究で、申請者は、特定の領域にある前駆細胞を、分裂を続けても標識が変わらない方法を開発し、これによる前駆細胞の恒久的蛍光標識と、オリゴデンドロサイトの特異的化学マーカーとを組み合わせることにより、オリゴデンドロサイトの発生様式を調べた。

申請者は、先ず、オリゴデンドロサイトのマーカーの Olig2 や、発生の一時期のマーカーである PDGFR α の陽性細胞分布を発生時期を変えて調べ、オリゴデンドロサイトが前脳腹側部から発生し皮質へ拡がることを支持する所見を得た。これを証明するために、体細胞普遍的に発現する遺伝子座の下流に、LoxP-転写終結因子-LoxP に続き GFP を入れたマウスで、エレクトロポレーション法で領域選択的に Cre-recombinase を導入・発現させ、その領域の細胞を恒久的に GFP で標識・追跡できる方法を確立した。この方法で、オリゴデンドロサイト発生部位の候補である前脳背側部または腹側部の前駆細胞を選択的にラベルした。この方法による細胞標識は成体でも検出できる。GFP 陽性オリゴデンドロサイトは、背側部の前駆細胞をラベルした時には見られず、腹側部を標識した時のみ観察された。発生中の大脳皮質で、Olig2 陽性細胞には、intermediate zone にある PDGFR α が既に陽性のものと、subventricular zone にあり、そこで PDGFR α が陽性になるものの二種類あった。これらから、大脳皮質オリゴデンドロサイトが前脳腹側部で発生し、正接方向に移動して皮質に入るの証明するとともに、その移動様式には、経路・分化時期が異なる二種類ある可能性を明らかにした。

本論文は、前駆細胞の新しい標識法を開発することで、大脳皮質オリゴデンドロサイトの発生部位・移動様式を決めるとともに、時期の異なる二種類の経路を明らかにした点で、グリア発生の分野における優れた研究である。以上、本論文は博士論文として充分の新規内容を含んでおり、学位論文として十分ふさわしいものであると審査委員会は判断した。

学位論文の説明の後に、実験方法や実験結果の解釈について審査委員と質疑応答がなされたが、申請者は的確に説明した。また、研究の背景についての質問にもわかりやすく解説し、しっかりした神経生物学の知識を有していると判断した。学位論文はわかりやすい英語で書かれており、英語で論文を発表する能力も十分あるものと判断された。これらから、申請者は学位にふさわしい知識、考察力、発表能力を備えているものと審査委員会は判定した。