

氏 名 小 川 泰 弘

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第782号

学位授与の日付 平成16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 Diversity of radial glial cells is formed
along the dorso-ventral axis in developing
mouse spinal cord

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 岡村 康司
教授 池中 一裕
教授 重本 隆一
教授 渡辺 雅彦 (北海道大学)

論文内容の要旨

The central nervous system (CNS) of the mammalian embryo is organized according to the expression of region-specific transcription factors along the anterior-posterior (A/P) and/or dorso-ventral (D/V) axis. For example, the dorsal ventricular zone (VZ) of the embryonic spinal cord expresses Pax3 and Pax7, the ventral VZ expresses Pax6, and the more ventral VZ expresses Nkx2.2. Properties of neuronal precursors located in the VZ are determined by the characteristic expression patterns of these transcription factors, leading to the generation of distinct classes of neurons. Recent studies demonstrated that radial glial cells produce neurons in addition to glia during CNS development.

Thus, neuronal precursor diversity may reflect the diversity of radial glial cells. If the radial glial cells show diversity, astrocytes generated from them may also. To investigate this hypothesis, we analyzed the expression of radial glial cell markers and transcription factors in the mouse embryonic spinal cord. We show that radial glial cells vary in expression of the astrocyte-specific glutamate transporter (GLAST) and the brain-lipid-binding protein (BLBP) at embryonic day 12.5 (E12.5). The region where GLAST is strongly expressed in the ventral radial glial cells is closely related to the Pax6-expressing domain, and the weakly expressed region corresponding to the Nkx2.2-expressing domain. Furthermore, dorsal radial fibers expressed ephrin-B1, where GLAST expression is negative. Thus, different types of radial glial cells exist according to the transcription factors at E12.5. Since GLAST is considered to be expressed when radial glial cells are generating astrocytes, there may also be diversity in glial precursor cells along the D/V axis in the mouse spinal cord.

論文の審査結果の要旨

発生初期の脊髄には、前後軸、背腹軸にそった転写因子遺伝子の発現パターンによって区別されるドメイン構造が存在し、これに応じて異なる種類のニューロン群が生成されるが、放射状グリア細胞においても転写因子遺伝子の発現パターンの異なるドメインが存在するか否かは、明らかにされてこなかった。

従来、放射状グリア細胞は、神経幹細胞から分裂した神経前駆細胞の移動を支持する細胞として、位置づけられてきた。しかし、近年、大脳において、放射状グリア細胞の少なくとも一部の細胞は、神経幹細胞そのものでありアストログリア細胞の性質を示しつつ神経前駆細胞を生成する細胞であることが明らかになってきた。従って、脊髄においても、放射状グリア細胞が神経幹細胞とアストログリア前駆細胞の両方の機能を有する可能性があり、転写因子発現パターンの異なる種類の放射状グリア細胞が存在する可能性がある。

本研究では、上記の仮説を、各種抗体 (RC2, GLAST 抗体, BLBP, Ephirin-B1, Pax7 など) を用いた免疫染色法によりマウス脊髄において検討した。その結果、胎生 12.5 日齢の胚では、脊髄背腹軸全体にわたって汎放射状グリア細胞のマーカーである RC2 抗体により認識される放射状グリア細胞が存在しているが、腹側の細胞のみが GLAST 抗体陽性であり背側の細胞のみが Pax7 陽性であり、分子の発現パターンにおいて多様性が確認された。また、腹側の p3ドメインには、GLAST の発現が弱く、Nkx2.2 陽性の細胞群が確認された。胎生 14.5 日齢では、GLAST 染色パターンは部位特異性は見られなかった。これらのことから、背側の放射状グリア細胞より遅れてグリア細胞分化を起こして GLAST を発現する可能性が考えられた。このことは、胎生期に背側脊髄に発現する Ephirin-B1 分子の染色パターンからも強く示唆された。

以上の知見から、胎生期の脊髄において、放射状グリア細胞の多様性が存在することが強く示唆された。今後、細胞系譜実験や遺伝子改変動物の利用などにより、単一の細胞における遺伝子発現と細胞運命との関係を詳細に検討する必要があるが、本研究で示された、胎生期脊髄の放射状グリア細胞の多様性は、現在神経生物学の論争となっている、神経幹細胞の細胞系譜を議論するうえで、重要な知見であるとともに、グリア細胞の細胞集団と機能の多様性の解明に向けて、大変意義深い知見である。

論文内容の口頭発表と関連事項の質疑応答を行った。さらに本研究アプローチの特色、結果の解釈、今後の展開方向について、各委員から試問を行った。多くの可能な解釈の中から、自らの考えを論理的に展開することができ、個々の質問についても丁寧に解答することができ博士としての学識を備えていると判定された。論文は、明快な英語で書かれており、英語で論文を発表する能力も備えていると判断された。以上から、申請者は学位を取得する水準に達しているものと判断した。