

氏 名 佐々木 哲也

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1389 号

学位授与の日付 平成 22 年 9 月 30 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Characterization of *SLIT1* as a Gene that is
Preferentially Expressed in the Prefrontal
Cortex of Old World Monkeys

論文審査委員 主 査 教授 高田 慎治
教授 山森 哲雄
教授 藤森 俊彦
名誉教授 藤澤 肇 (名古屋大学)

論文内容の要旨

The primate cerebral cortex is evolutionally enlarged, and it consists of multiple areas with distinct functions. To elucidate the molecular basis for the specialization of cortical architectures, Prof. Tetsuo Yamamori and his colleagues searched for genes differentially expressed among neocortical areas of Old World monkeys by restriction landmark cDNA scanning (RLCS). Here, the author report that mRNA of *SLIT1*, an axon guidance molecule, is abundant in the higher-order association areas but with developmentally related changes. *In situ* hybridization analysis revealed that *SLIT1* mRNA was mainly distributed in the middle layers of most cortical areas, robustly in the prefrontal cortex and faintly in primary sensory areas. The lowest expression was observed in the primary visual area (V1). Comprehensive expression analyses of other *SLIT* (*SLIT2* and *SLIT3*) mRNAs showed enriched expression in the higher-order association areas with a distinct laminar pattern. By contrast, the receptor *Roundabout* (*ROBO1* and *ROBO2*) mRNAs were widely distributed throughout the cortex. Cortical neurons, particularly in the higher-order association areas, simultaneously express *SLIT* and *ROBO* genes. From the late fetal to early postnatal stage, *SLIT1* mRNA was abundantly expressed in layers IV and VI in the cortex with modest area specificity. Downregulation of expression initially occurred in early sensory areas around postnatal day 60 followed by the association areas. Thus, the prefrontal-enriched *SLIT1* mRNA expression results from a relatively greater attenuation of this expression in the other areas. These results suggest that its role is altered developmentally, and that this is particularly important for prefrontal connectivity in the postnatal primate cortex.

申請者は、霊長類大脳皮質で特に発達している連合野の機能と形成のメカニズムに興味を持ち、所属研究室（脳生物部門）で小松等がRLCS(restriction landmark cDNA)法により同定した連合野特異的発現遺伝子の一つであるSLIT1の詳細な発現解析を行った。

先ず、成体マカクザルの大脳皮質におけるSLIT1 mRNAの発現をin situ hybridization(ISH)法により解析し、前頭前皮質でその発現が特に強いことを見出した。また、頭頂・側頭連合野でもかなり強い発現が観察された。一方、一次感覚野や一次運動野での発現は極めて低かった。SLIT1の発現は、2-6層に観察され、特に4層を中心として、3層深部-5層上部にピークを持つ。このパターンは、領野間で共通であり、領野間で異なるのは、その強弱であった。更に、二重ISH法により、SLIT1が興奮性細胞と抑制性細胞の異なる細胞種で発現することを明らかにした。これらの事実は、SLIT1の連合野特異的発現が細胞種に関わらずに決定されており、その決定においては領野特異性をもつ機構が存在している事を示唆している。申請者は、更に、成体サルにおける他のSLITファミリー(SLIT2, SLIT3)とその受容体ファミリーであるROB01, ROB02の発現パターンについて解析を行い、SLIT2とSLIT3は、高次連合野に発現しているが、SLIT1とは異なる層に発現しており、又、ROB01とROB02は、皮質全体に亘り発現していることを見出した。また、高次連合野に於ける神経細胞は、SLIT1とROB01, ROB02を共発現していることも明らかにした。これらの成体サルにおけるSLIT1とROB01, ROB02の共発現のパターンは、マウスを含めて発生期のROB01やROB02を発現している神経細胞の反撥因子として働くSLIT1とは異なる機能を連合野に於いて果たす可能性を示唆している。以上の成果は、国際誌(Cerebral Cortex)に投稿され、すでに発表されている。

更に申請者は、大脳皮質への視床等の他の脳領域からの投射が始まる胎生83日から順に胎生150日まで、新生児、生後1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月の大脳皮質に於けるSLIT1の発現パターンを詳細に調べた。その結果、驚いたことにSLIT1は胎生83日では、一次視覚野予定域6層に発現しその後他の領域に6層の発現が拡大して行き、一方、その直後から連合野4層から他の脳領域への発現の拡大が見られ、新生児では、4層（一次視覚野を除く）と全領野に於ける6層の発現が見られた。このような胎生期のSLIT1の発現パターンは生後60日以降に変化し、次第に成熟ザル型の発現パターンが確立する。申請者は、これらのことから、SLIT1とROB01/ROB02が共に同一の神経細胞に発現する成熟連合野型への発現パターンの変化が、どのような機能的意義を持ちうるのかについて考察し、樹状突起伸長やスパイン(棘)形成の促進等幾つかの可能性を示唆した。

結論として、申請者の研究は、霊長類連合野発達のマーカーとしてSLIT1が有効であることを示しているとともに、その機能的意義の解明に道を開くものであり、学位に十分値するものであると判定した。