

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 外 崎 円

主論文 1 編

L1cam is crucial for cell locomotion and terminal translocation for the soma in radial migration during murine corticogenesis.

PLoS One 9:e86186, 2014

審査結果の要旨

神経細胞接着分子 L1cam (L1 cell adhesion molecule,以下 L1) はヒトの X 染色体連鎖性水頭症の責任遺伝子として知られている。マウスの大脳皮質形成過程において,L1 分子の発現抑制により皮質神経細胞遊走遅延や細胞分化方向の異常が生じることが報告されたが,そのメカニズムは未解明であった。

そこで,本申請者はタイムラプス観察による細胞動態解析を企図した。はじめに pGeneClip™ hMGFP vector に L1 を標的とした配列を組み込んだ shRNA を 5 種類,スクランブル配列を組み込んだネガティブコントロール shRNA を作製した。発現ベクターを導入 (以下,遺伝子導入) 後に胎仔脳を取り出し 200 μm 厚の大脳壁スライスを作製し組織培養した。レーザ共焦点顕微鏡でタイムラプス画像を取得し L1 の発現抑制が細胞遊走に及ぼす変化を対照細胞と比較解析した。

胎齢 13.5 日 (E13.5) で遺伝子導入し E14.5 で作製した脳スライスを用いて 3 日間観察したところ, L1 発現が抑制された細胞 (L1KD 細胞) では中間帯での細胞遊走速度が 48 時間以降で有意に低下した (Student's *t*-test, $p=0.004$)。E15.5 で作製した脳スライスを用いた観察では,対照細胞は原皮質帯まで遊走後,先導突起がすばやく短縮することにより細胞体が皮質板の最上部まで引き上げられた。これに対し L1KD 細胞では,先導突起がより長くかつ彎曲していた。突起の曲線性の指標とした曲線度 (Curvature Index) は, L1KD 細胞では対照細胞に比して有意に増加していた (Student's *t*-test, 0h: $p=0.0431$; 1h: $p=0.0193$)。これらの結果より,哺乳類の大脳皮質形成過程における放射状遊走の各相の進行に,L1 が機能的に極めて深く関わっていることが示唆された。

以上が本論文の要旨であるが, shRNA を用いてマウス終脳・脳室層で L1 ノックダウンを行うことにより, 大脳皮質形成過程における L1 の神経細胞移動への関与を細胞レベルで解明し,L1 変異による遺伝性神経疾患の病態理解への示唆を得た点で,医学上価値のある研究と認める。

平成 26 年 3 月 20 日

審査委員 教授 水野敏樹 ㊞

審査委員 教授 小野勝彦 ㊞

審査委員 教授 峯浦一喜 ㊞