



Title	Roles of Wnt signaling in development of the mouse central nervous system
Author(s)	室山, 優子
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43599">https://hdl.handle.net/11094/43599</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	むろ やま ゆう こ 室 山 優 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 7 6 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	Roles of Wnt signaling in development of the mouse central nervous system (マウス中枢神経系の発生における Wnt シグナルの役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 近 藤 寿 人  (副査) 教 授 八 木 健 教 授 岡 田 雅 人

### 論 文 内 容 の 要 旨

中枢神経の発生過程では神経前駆細胞の増殖や分化が時期および領域特異的に制御される。分泌性シグナル分子はこのような増殖や分化を制御している。分泌性シグナル分子 Wnt には数多くのメンバーが存在し、それらは発生過程の様々な局面において重要な役割をはたしている。Wnt1 および Wnt3a はこれまでに背側神経管での細胞増殖に関与することが示されていたが、それ以外の制御機能の可能性は検討されていなかった。そこで私はまず脊髄について、Wnt 発現領域の近傍で発生する介在神経細胞の領域特異化に対するこのシグナルの機能を解析した。さらに、神経前駆細胞に対する Wnt シグナルの作用を明らかにするため、神経前駆細胞の初代培養系 (neurosphere culture) を用いた解析を行った。

#### 1) 脊髄の発生過程における Wnt シグナルの役割

脊髄の発生過程においては背側の介在神経細胞、および腹側の運動神経細胞が背腹軸に沿って正しく形成される。脊髄最背側の蓋板からのシグナルが二種の介在神経細胞サブクラス (背側から D1、D2 と呼ばれる) の発生に必須である。私は蓋板に発現する Wnt1 および Wnt3a が介在神経細胞の発生に関与する可能性を検討した。まず、Wnt1 および Wnt3a の両遺伝子を欠失した二重変異体における介在神経細胞の形成を解析した結果、二重変異体においては背側介在神経細胞のうち、D1、D2 神経細胞が失われ、D3 神経細胞が背側に拡大していた。この二重変異体においては、蓋板における BMP ファミリーの発現は全く変化していない。このことから Wnt シグナルは直接に作用して D1、D2 神経細胞を特異化すると考えられた。さらに Wnt3a 蛋白をニワトリ胚の神経板中間部 (通常 D1、D2 神経細胞が発生しない領域) から取り出した組織片に添加したところ、本来この領域から発生する D3 神経細胞の数が減少し、D1、D2 神経細胞数が増加した。この D1、D2 神経細胞の誘導は BMP のアンタゴニストである Noggin によって阻害されなかった。以上のことから、蓋板から分泌される Wnt シグナルは BMP シグナルを介さずに直接 D1、D2 神経細胞を誘導すると結論された。

#### 2) Wnt 蛋白質による神経前駆細胞からの分化の促進

In vitro で神経前駆細胞の増殖、分化を解析することが可能である neurosphere culture を用いて、神経前駆細胞に対する Wnt 蛋白質の作用を調べた。Flag-WNT3A を含む conditioned medium (以下 C.M.) を胎生10.5のマウス胎仔の終脳から得た neurosphere culture に与えた。Wnt3a を含まない C.M. では、神経前駆細胞は neurosphere をつくって未分化状態のまま増殖したのに対して、Flag-WNT3A C.M. を添加すると培養3日目で多数の細胞が神経

細胞に分化した。この効果は濃度依存的にみられた。以上の結果から、Wnt 蛋白は神経前駆細胞に対して神経細胞への分化を促進する活性をもつことが明らかになった。

#### 論文審査の結果の要旨

脊髄の背側には感覚をつかさどる数種類の介在神経、腹側には数種類の運動神経が分化し、発生過程における中枢神経系の部域化の成立機構のすぐれたモデルとなっている。背側の蓋板および腹側の底板から分泌されるシグナル分子が濃度勾配を形成して神経前駆細胞に作用して、背側から腹側にかけて生ずる様々な神経集団の各々を決定すると考えられ、そこで背側介在神経の神経種を決定するのは BMP ファミリー分子であると見なされていた。本研究では、背側の介在神経種を直接に決定するのは蓋板から分泌される Wnt1, Wnt3a であることを、ノックアウトマウス胚や胚神経板の培養を駆使して証明し、定説を覆した。本研究は、中枢神経系の背側の部域化の機構を解明するとともに、Wnt ファミリー蛋白質の持つ重要な分化制御活性を明らかにした、優れたものである。博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。