The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Drosophila homeodomain protein REPO controls glial differentiation by cooperationg with ETS and BTB transcription factors
Author(s)	湯浅, 喜博
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44671
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　湯浅喜博（ゆ あさ よし ひろ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　18282　号

学位授与年月日　平成16年1月28日

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位論文名　*Drosophila* homeodomain protein REPO controls glial differentiation by cooperating with ETS and BTB transcription factors
（ショウジョウバエREPO蛋白質はETS型やBTB型転写因子と協調してグリア細胞の分化を制御する）

論文審査委員　（主査）
教　授　内山　安男

（副査）
教　授　近藤　寿人　　教　授　濱田　博司

論文内容の要旨

〔目　　的〕

神経系は2種類の細胞（ニューロンとグリア細胞）から構成されている。ニューロンの役割は信号伝達である。グリア細胞の役割は電気的絶縁や神経栄養因子の産出、神経細胞の移動や神経軸索の伸長のための基質の提供など、神経形成に多様な働きをしている。この様に多機能なグリア細胞は、位置や形態、遺伝子の発現などにより分類されている。ショウジョウバエの神経系では、ニューロンvs. グリアの運命分岐決定は、*glial cells missing*（*gcm*）によることが既に明らかとなっている。しかし、このようにして生じたグリア細胞がどのような過程で成熟していくのかは不明な点が多い。*gcm*の下流で働く遺伝子の1つに*repo*（*reversed polarity*）がある。*repo*はmidline glia細胞以外の全てのグリア細胞で特異的に発現しPaired類似のホメオドメインを有する転写制御因子である。*repo*機能欠失型突然変異体では、グリア細胞の特異化はおこるがグリア細胞の終分化に異常がある。本研究ではグリア細胞の分化における*repo*の機能を解析することにより、多種多様なグリア細胞がどのようにして成熟していくのかを明らかにすることを目的としている。

〔方法ならびに成績〕

まず初めに、*in vitro*にて結合することが明らかとなっているCAATTA配列を含むレポーター遺伝子（ルシフェラーゼ）を用い、REPOが培養細胞系で転写促進因子として機能しうるかを調べた。ルシフェラーゼ法の結果、REPOはホメオドメインを介しCAATTA配列を特異的に認識し、下流標的因子を制御していることが示唆された。この結果を踏まえ、*in vivo*におけるREPOの転写制御能について検討した。CAATTA配列を含むレポーター遺伝子を持つトランスジェニック系統では、末梢神経系のグリア細胞と中枢神経系の一部のグリア細胞にて、レポーター遺伝子が発現する。グリア細胞におけるこのマーカー遺伝子の発現は、*repo*機能欠失型突然変異体にて消失あるいは著しく減少した。REPOを異所的に発現させたところ、末梢神経系では異所的なマーカー遺伝子の発現が認められたが、中枢神経系ではマーカー遺伝子の異所的な発現が確認できなかった。この結果は、中枢神経系のグリア細胞の分化には、REPO以外にも他の転写制御因子が必要であることが示唆された。そこで、*gcm*の下流で働くことが知られている*pointed* P1（*pnt* P1）と*tramtrack69*（*ttk69*）に注目し、*repo*との関係を調べた。

中枢神経系の subperineural glia で発現するエンハンサー・トラップ系統（M84 系統）の発現を、*repo*、*pnt*、*ttk* の機能欠失型突然変異体でそれぞれ調べたところ、*pnt* 機能欠失型突然変異体ではマーカー発現に変化は認められなかったが、*repo* と *ttk* 機能欠失型突然変異体では、マーカー遺伝子の発現が消失あるいは著しく減少した。異所的に REPO と TTK 発現させた結果、おのおの単独と比較して、REPO と TTK を同時に発現させた時に相乗的にマーカー遺伝子が異所的に発現した。この結果は REPO と TTK が協調して subperineural glia で発現している M84 マーカー遺伝子の発現を制御していることを示す。*pnt* は subperineural glia のマーカー遺伝子の発現には関与していなかったが、longitudinal glia にて発現している *loco*（regulators of G-protein signaling protein family）の発現に関与していることが示唆されている。そこで *repo* もまた *loco* の発現調節に関与しているかを調べた。その結果、*repo* 機能欠失型突然変異体においても *loco* の発現が消失していた。異所的に REPO と PNTP1 を発現させた結果、おのおの単独と比較して、REPO と PNPP1 を同時に発現せた時に相乗的な *loco* の異所的発現が観察された。この結果は REPO と PNTP1 が協調して longitudinal glia で発現している *loco* の発現を制御していることが明らかとなった。

一方で、グリア細胞が分化するためには、ニューロンへの分化を抑制しなければならない。TTK は抑制機構に関与していることが示唆されていたが、REPO もまた TTK と強調して働くことにより、ニューロンの分化を抑制していることが明らかとなった。

〔 総　　括 〕

REPO はグリア細胞で発現する転写制御因子 PNT や TTK と協調し、多様なグリア細胞への分化促進とニューロンへの分化抑制により、グリア細胞を成熟させる主要な転写制御因子であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

神経系の発生・分化機構の中で、ニューロンに関しては、“その前駆体”遺伝子群を中心に多くの解析がなされてきた。しかし、グリア細胞の発生・分化については細胞系譜に関するものが主で、今日なお不明な点が多い。本研究は哺乳類などの脊椎動物と比較してより単純な神経系を有するショウジョウバエを対象とし、生化学的、組織学的手法のみならず遺伝学的手法を用いて、グリア細胞の発生・成熟機構を解析したものである。第一に、グリア細胞で特異的に発現している repo 遺伝子の機能解析を行い、次に、下流標的遺伝子群を同定し、標的因子の発現調節機構の解析を行った。その結果、repo と他の転写因子（ttk や pnt）が協調することにより、下流標的因子群の発現を調節していることが初めて明らかとなった。これらの結果は、異なった転写因子群の組み合わせにより、多様なグリア細胞集団を産み出していることを示唆するものであり、哺乳類を初めとする高等動物でのグリア細胞の発生・分化機構を考える上で重要な所見となり、学位の授与に値すると考えられる。