

山田 卓生氏の学位論文審査の要旨

論文題目

ラセン神経節細胞の発生・分化にTIS21遺伝子が必要である

(Neurogenesis of the spiral ganglion cells in the cochlea requires the transcriptional cofactor TIS21)

ラセン神経節細胞は、蝸牛ローゼンタール管の中にその細胞体を有し、蝸牛有毛細胞によって機械的エネルギーから電氣的エネルギーへと変換された音情報を延髄蝸牛神経核に伝達するという、聴覚機能において極めて重要な役目を担っている。しかし、その発生・分化における分子生物学的なメカニズムは不明な点が多い。

TIS21 遺伝子は BTG/Tob ファミリーと呼ばれる増殖抑制遺伝子群に属し、今までに細胞周期の抑制およびアポトーシスの抑制、癌増殖抑制、小脳における神経細胞の分化の誘導といった働きが報告されている。野生型ラットを用いた研究において、ラセン神経節細胞の前駆細胞である神経芽細胞において TIS21 蛋白が発現し、ラセン神経節細胞に分化する時期に一致して TIS21 蛋白の細胞内局在が変化することが明らかになっている。このことは、ラセン神経節細胞の発生・分化においても TIS21 が何らかの重要な役割を果たしている可能性があることを示していると考えられる。本研究では、申請者は TIS21 遺伝子を GFP に組み替えた遺伝子改変マウス(TIS21 欠失マウス)におけるラセン神経節細胞の形態的評価を行うことにより、ラセン神経節細胞の発生・分化における TIS21 遺伝子の関与を検討することを目的とした。

本研究では TIS21 遺伝子の代わりに GFP を組み込んだ TIS21 欠失 GFP ノックイン C57BL/6 マウスを用い、胎生 13.5 日、15.5 日、18.5 日、生後 4 日の凍結組織を得、コントロールマウスとの違いを組織学的、形態学的に比較検討した。また両マウス組織のアポトーシスの評価も併せて行った。

TIS21 欠失マウスではそれぞれのチェックポイントにおいて、コントロールマウスと比べ、ラセン神経節細胞数の減少を認めた。また、ラセン神経節細胞を収めているローゼンタール管の断面積の減少、伸長の遅れも認められた。ラセン神経節細胞のアポトーシスに関しては、両マウスの間で有意な差は認められなかった。これらの結果より TIS21 遺伝子がラセン神経節細胞の発生・分化において不可欠な遺伝子であることが明らかとなった。

審査では 1.TIS21 遺伝子の内耳細胞での発現パターンについて、2.ラセン神経節細胞のタイプの区別について、3. TIS21 遺伝子ノックアウトマウスにおける聴覚や表現型について、4. ラセン神経節細胞の TIS21 蛋白質の染色パターンについて、5. ラセン神経節細胞の heterogeneity について、6. ラセン神経節細胞の前駆細胞として幹細胞の有無について、7. ローゼンタール管の立体での評価の可能性について、8. 研究での解析ポイントの妥当性について、9. TIS21 遺伝子の制御因子について 10. アポトーシスの解析についてなど質疑がなされたが、申請者からは概ね良好な解答が得られた。

本研究は、TIS21 遺伝子操作を介してラセン神経節細胞の発生・分化のメカニズムに迫ろうとした意義あるものとして学位の授与に値すると評価した。

審査委員長

神経内科学担当教授

安東由喜雄