

氏名	まつい まさる 松 井 大
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2274号
学位授与の日付	平成12年7月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科脳統御医科学系専攻
学位論文題目	<i>Xenopus</i> Kielin: A dorsalizing factor containing multiple chordin-type repeats secreted from the embryonic midline. (アフリカツメガエル Kielin: 胚の正中部から分泌される複数の chordin 様リピート構造をもつ背側化因子)
論文調査委員	(主査) 教授 影山龍一郎 教授 中辻憲夫 教授 柴崎 浩

論文内容の要旨

脳神経系は、発生期において、まず未分化外胚葉から神経組織が誘導され(一次誘導)、その後領域特異的な神経組織が形成されていく(二次誘導)。この誘導と呼ばれる現象は、種々の分泌因子によって行われており、近年一次誘導における神経誘導因子として chordin などが単離された。しかし、二次誘導における分子実体については、まだ完全に明らかにはなっていない。

本研究では、この領域特異的な神経組織を誘導する分子を単離する目的で、アフリカツメガエル前脳の前基に対して Signal Peptide Selection 法を用いた。その結果、発生期に正中部(脊索および神経管底板)に限局して発現する新規分泌因子の単離に成功した(Kielin と命名)。この初期胚の正中部は、二次誘導活性のある部位として知られており、運動神経誘導因子である Sonic hedgehog (以下 Shh と略す)を分泌する。in situ hybridization 解析では、Kielin の発現部位は、Shh とほぼ同様であった。

Kielin の cDNA の全長は、8137bp であり、Kielin は、三つの domain より構成されている。一番目の domain は、血小板から分泌される thrombospondin と相同性がある。二番目の domain は、神経誘導因子 chordin と同様のシステインに富むリピート構造を27個有している。三番目の domain は、von Willebrand 因子と相同性を有している。Kielin はシグナルペプチド配列をもち、hydropathy profile および分泌蛋白である thrombospondin, chordin, von Willebrand 因子と相同性をもつことより分泌蛋白と考えられた。

Kielin の遺伝子発現の調節や機能に関しては、mRNA 微量注入法により検討した。

Kielin の神経管底板の発現調節に関しては、未分化外胚葉の in vitro 培養系において、神経誘導因子である chordin と正中部のシグナル因子である Shh, HNF3 β の共発現により、Kielin の発現が誘導されることがわかった。Kielin の脊索の発現調節に関しては、中胚葉予定組織の in vitro 培養系において、chordin や脊索に発現する分泌因子である Xnr-4 により Kielin の発現が誘導されることがわかった。

Kielin の機能については、in vivo の系において、Kielin の強制発現により、筋肉のマーカーである MyoD の発現領域を拡大し、低頻度であるが神経のマーカーである NCAM の発現領域も拡大した。中胚葉予定組織を用いた in vitro の系では、本来腹側中胚葉(血球など)になる組織を、背側中胚葉(筋肉など)に誘導する活性があることがわかった。(中胚葉背側化活性)

以上のように、本研究では、Signal Peptide Selection 法を用い、新規シグナル因子である Kielin の単離に成功し、その構造および機能を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

脳神経系の発生期においては、まず未分化外胚葉から神経組織が誘導され(一次誘導)、その後領域特異的な神経組織が

形成されていく（二次誘導）。本研究では、この二次誘導に関与する分子を単離する目的で、アフリカツメガエル前脳の前基に対し Signal Peptide Selection 法を用いた。その結果、発生期に正中部（脊索、神経管底板）に発現し、神経誘導因子 chordin と同様のリピート構造を27個有する新規分泌因子（Kielin と命名）の単離に成功した。Kielin の遺伝子発現の調節や機能に関しては、mRNA 微量注入法により検討した。その結果、Kielin の神経管底板の発現は、chordin と Shh、HNF3 β の共発現により調節されており、脊索の発現は、chordin や Xnr-4 により調節されていることがわかった。Kielin の機能については、in vivo の系において、Kielin の強制発現により筋肉のマーカである MyoD の発現領域を拡大し、低頻度ではあるが、神経のマーカである NCAM の発現領域も拡大した。中胚葉予定組織を用いた in vitro の系では、中胚葉背側化活性があることがわかった。これらの結果から、Kielin は、神経、筋組織の初期発生に重要な役割を果たしている新規シグナル因子と考えられた。

以上の研究は、神経、筋組織の初期発生のメカニズムの解明に貢献し、神経、筋組織の再生修復機構の理解や再生医学の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成12年7月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。