

氏名	み やけ あゆみ 三 宅 歩
学位(専攻分野)	博士(薬学)
学位記番号	薬博第408号
学位授与の日付	平成10年3月23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	薬学研究科薬品作用制御システム専攻
学位論文題目	FGF受容体の脳内発現に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 伊藤信行 教授 川崎敏祐 教授 佐藤公道

論文内容の要旨

FGF (fibroblast growth factor) は線維芽細胞に対する増殖因子として単離されたが、その後、様々な細胞に対する増殖因子、血管新生因子、神経栄養因子などとして多様な生物活性を示すことが明らかにされている。また、構造上の類似性から、現在までに16種類のFGFの存在が報告されている。近年、特にFGFの中樞神経系における細胞分化及び栄養因子としての作用が注目されてきている。

FGFの生理作用は膜結合型チロシンキナーゼ受容体であるFGF受容体を介して発現することから、脳内におけるFGFの機能を解明するためには、FGF受容体の脳内における発現様式を検討することが必要である。しかし、FGFを対象にした研究は数多くあったが、FGF受容体を対象にした研究はほとんどなかった。そこで、申請者は実験系として有用なラットを用い、脳内で発現しているFGF受容体を探索するとともに、それらのmRNAの脳内発現分布を詳細に検討し、以下のような有用な知見を得た。

第一章 FGF受容体 mRNA の探索と脳内における発現様式

既知の3種類のFGF受容体、FGFR-1、FGFR-2、FGFR-3、の構造上の類似性を利用した homology-based PCR 法によりラット脳 cDNA ライブラリーを探索したところ、既知の3種類のFGF受容体 mRNA 以外に、新規なFGF受容体として FGFR-4 mRNA を単離した。さらに、これらのFGF受容体 mRNA のラット脳内発現分布を in situ ハイブリダイゼーション法により検討した。FGFR-1、-2、-3 mRNA は脳内で広範囲に発現していたが、その発現パターンはそれぞれ特異的で、FGFR-1 mRNA は神経細胞、FGFR-2、-3 mRNA はグリア細胞に特異的に発現していた。一方、FGFR-4 mRNA は視床上部の特定の神経核に特異的に発現していた。

従って、FGFR-1 mRNA のみが脳内の多くの神経細胞で高発現していることから、FGFR-1は神経細胞の一般的な機能に重要な役割を果たしていると考えられる。また、FGFが特に重要な役割を果たしていると考えられている海馬の神経細胞においても FGFR-1 mRNA のみが高発現しており、FGFR-2、-3、-4 mRNA は発現していないことから、海馬の神経細胞におけるFGFの作用は主にFGFR-1によって介されると思われる。さらに、FGFR-2、-3 mRNA を発現しているグリア細胞を同定したところ、FGFR-2 mRNA はオリゴデンドロサイトに、FGFR-3 mRNA はアストロサイトにそれぞれ特異的に発現していることを明らかにした。また、脳内での発現が明らかにされているFGFの内、bFGFとFGF-9 mRNA は脳内で広範囲に発現しており、bFGFはグリア細胞に、FGF-9は神経細胞にそれぞれ特異的に発現している。以上のことから、FGFの作用メカニズムとしては、神経細胞とグリア細胞間の多様な相互作用が考えられる。さらに、申請者は内側手綱核において FGFR-4 mRNA が特異的に高発現している細胞は、コリン作動性ニューロンであることを明らかにした。従って、FGFR-4は内側手綱核に特異的な機能である塩・水分バランス調節に関与している可能性が示唆された。

第二章 生後の発達過程の脳内における FGF 受容体 mRNA の発現

生後の発達過程の脳内における FGF 受容体の役割を明らかにするために、生後の発達過程における 4 種類の FGF 受容体 mRNA の脳内発現分布を *in situ* ハイブリダイゼーション法により検討した。FGFR-1, -2, -3 mRNA については、生後の発達過程における発現の変化があまり見られなかった。一方、FGFR-4 mRNA は、生後11日目前後に小脳皮質の外顆粒層の顆粒細胞で一過性に高発現していた。

申請者らの研究室の服部は、FGF mRNA の生後発達過程におけるラット脳内発現分布についても *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて検討しており、FGF-5 mRNA 小脳皮質の内顆粒層の顆粒細胞で、FGFR-4 mRNA と同様に、生後11日目前後に一過性に高発現していることを明らかにしている。さらに、FGF-5 が FGFR-4 に結合することも明らかにしている。

ラットの生後11日目前後は、小脳皮質の顆粒細胞の増殖と外顆粒層から内顆粒層への移動が最も盛んな時期である。従って、FGF-5 は FGFR-4 に作用し、外顆粒の顆粒細胞の増殖あるいは移動を促進することにより、小脳皮質の顆粒細胞層構造の形成に関与している可能性が示唆された。

以上、本研究は 4 種類の FGF 受容体の脳内発現と特異性を明らかにしたもので、FGF の脳内での生理作用を明らかにする上で重要な知見を得たものである。

論文審査の結果の要旨

FGF は線維芽細胞に対する増殖因子として単離されたが、その後、多様な生物活性を示すことが明らかにされている。その構造上の類似性から、現在まで16種類の FGF の存在が報告されている。近年、特に FGF の中枢神経系における細胞分化及び栄養因子としての作用が注目されてきている。

FGF の生理作用は FGF 受容体を介して発現することから、脳内における FGF の機能を解明するためには、FGF 受容体の脳内における発現様式を検討する必要がある。しかし、FGF を対象にした研究は数多くあったが、FGF 受容体を対象にした研究はほとんどなかった。そこで、著者は実験系として有用なラットを用い、脳内で発現している FGF 受容体を探索するとともに、それらの脳内発現分布を詳細に検討し、以下のような有用な知見を得た。

既知の 3 種類の FGF 受容体の構造上の類似性を利用して、ラット脳 cDNA ライブラリーを探索したところ、新規な FGF 受容体として、FGFR-4 を同定した。さらに、これらの 4 種類の FGF 受容体の発現を *in situ* hybridization 法により検討した。FGFR-1, -2, -3 は脳内に広範囲に発現していたが、その発現パターンはそれぞれ特異的で、FGFR-1 は神経細胞、FGFR-2, FGFR-3 はグリア細胞に特異的に発現していた。一方、FGFR-4 は視床上部の特定の神経核に特異的に発現していた。

FGFR-1 は脳内の多くの神経細胞で高発現していることから、FGFR-1 は神経細胞の一般的な機能に重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、FGFR-2, FGFR-3 を発現しているグリア細胞を同定したところ、FGFR-2 はオリゴデンドロサイトに、FGFR-3 はアストロサイトにそれぞれ特異的に発現していることを明らかにした。脳内の広範囲な領域に高発現している bFGF, FGFR-9 はそれぞれ、グリア細胞、神経細胞に特異的に発現している。従って、FGF の作用メカニズムとしては、神経細胞とグリア細胞間の多様な相互作用が考えられる。さらに、筆者は FGFR-4 は内側手綱核にコリン作動性ニューロンに特異的に発現していることを明らかにした。

著者は生後の発達過程で FGFR の発現を調べ、FGFR-4 が生後11日目前後の小脳皮質の外顆粒層の顆粒細胞に一過性に高発現していることを明らかにした。FGF-5 が同様の時期に小脳皮質の内顆粒細胞に一過性に発現していることから、FGF-5 が FGFR-4 を介して小脳皮質の顆粒細胞層構造の形成に関与している可能性を示唆している。

以上、本論文は 4 種類の FGF 受容体の脳内発現とその特異性を明らかにしたもので、FGF の脳内での生理作用を明らかにする上で重要な知見を得たものである。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。

更に、平成10年3月4日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。