

氏 名	木 村 芳 滋
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 1843 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 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	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	マウスカドヘリン11の発現と機能

(主 査)
論文調査委員 教 授 竹 市 雅 俊 教 授 山 森 哲 雄 教 授 永 田 和 宏

論 文 内 容 の 要 旨

細胞接着分子カドヘリンは多様なタイプからなる分子群を形成しており、形態形成への関与が示唆されている。申請者はさらに新しいタイプのカドヘリンを同定するためにPCR法を適用し、得られたcDNA断片を用いてcDNAライブラリーのスクリーニングを行って、ヒトカドヘリン11の相同分子と考えられるマウスカドヘリン11を同定し、発現パターン機能を解析した。

次に申請者は、カドヘリン11を強制発現させたL細胞が典型的なCa²⁺依存性のホモフィリックな接着能を獲得し、細胞集合実験の結果、E-カドヘリン、P-カドヘリン、N-カドヘリン、R-カドヘリンをそれぞれ発現するL細胞とは接着しないことを示し、カドヘリン11が他のカドヘリンで示されたような接着特異性をもっていることを明らかにした。

さらに申請者はカドヘリン11の初期胚間充織でのmRNAの発現パターンをin situ ハイブリダイゼーション法により解析し、同時に、間充織で発現するN-カドヘリンと比較している。カドヘリン11の発現は原条胚の頭部及び尾部の中胚葉層から始まり、その後は、頭部、体節、胚芽の間充織での発現が顕著となるなど、申請者はその変化を詳細に調べている。その結果、カドヘリン11は体節形成において沿軸中胚葉では発現がないが、体節が形成されると同時に発現が始まり、その発現は体節の前駆細胞の集合と分離の過程とよく相関していることを示した。また、体節での発現は発生が進むにしたがって、硬節に局限していくが、この発現パターンは真皮性筋節に局限するN-カドヘリンと相補的であることを示している。

ついで申請者は、このようなカドヘリン11の発現が間充織細胞間の選別に関与しているかどうかを検討するために、肢芽の間充織をペレット状にして培養した後、カドヘリン11の発現パターンを調べている。その結果、カドヘリン11を発現する細胞は発現していない細胞から分離してその周囲を取り巻くように分布することを明らかにした。これらの結果から、申請者はカドヘリン11が一部の間充織の特異的な集合や分離に関与している可能性を示唆している。

次に申請者はカドヘリン11が間充織だけでなく神経系の構造でも発現が見られることに注目し、より後

期のマウス胚の脳における mRNA の発現パターンを解析し、その結果を3つのカテゴリーに分けて分類している。第1は、胚の脳における分節構造の境界部における発現である。例えば背側視床と腹側視床、また中脳の境界などの狭い領域でカラム状に存在する。第2は、脳室側の細胞層において、特定の分節だけで発現するパターンである。典型的な例は視床下部で見られる。第3は、分化途上あるいは分化した特定の神経核における発現である。カドヘリン11を発現する分化中の神経核には視床、視床上部、視蓋前域等が含まれ、分化した神経核には乳頭核、赤核、動眼神経核、黒質、三叉神経運動核、顔面神経運動核、下オリーブ核、舌下神経前核等が含まれる。さらに、小脳の表層部および分化中の小脳核、また大脳の皮板等でも発現が見られる。

申請者はこれらの結果から、カドヘリン11による特異的な細胞接着が、神経系の発生において脳の分節化や区画化の諸過程のために機能している可能性、さらに神経核を形成するニューロンの集合への関与の可能性を議論している。

論文審査の結果の要旨

カドヘリン接着分子群について、これまでN-カドヘリン、E-カドヘリンなどタイプⅠ型カドヘリンの性質や機能が広範囲に研究され、形態形成の諸過程で重要な働きをしていることが示されてきた。近年、PCR法によるクローニングによってカドヘリン分子群の数は飛躍的に増加し、構造上それらの一部は新しいグループ(タイプⅡ型)を形成することが明かとなったが、それらについての機能・発現の解析は全くなされていなかった。申請者はタイプⅡ型カドヘリンの1つであるカドヘリン11の機能と発現パターンについて、既知のカドヘリンと比較検討しながら詳細に解析している。

申請者は初めてマウスカドヘリン11を同定し、接着活性と接着特異性について調べている。その結果、カドヘリン11も既知のカドヘリンと同様、接着活性・接着特異性を有することを明らかにした。この結果は、カドヘリン分子群がその構造・発現パターンの相違に関わらず、共通の性質を有することを示した点において重要である。次に申請者はカドヘリン11の発現パターンを *in situ* ハイブリダイゼーション法で詳細に解析している。その結果、これまで、細胞の集合がありながら、カドヘリンの発現が明らかでなかったいくつかの領域でカドヘリン11の発現を認めた。特に体節においては、これまでN-カドリンが消失することで移動すると考えられていた硬節領域での発現を見出し、移動する間充細胞でのカドヘリンという新しい概念を提出している。

ついで申請者は、このように細胞が相対的に弱く集合している組織でのカドヘリンの発現が実際に機能的であるかどうかを *in vitro* の肢芽間充細胞培養系で解析し、カドヘリン11陽性細胞がカドヘリン11陰性細胞から選別されることを示した。このことは間充細胞の集合現象における細胞選別現象にカドヘリン分子が関与している可能性を示唆する重要な結果である。

さらに、申請者はカドヘリン11の脳における発現パターンを解析しこれが、脳の分節構造であるニューロメアに対応した発現、分節構造の境界領域に対応した発現、形成期の神経核に対応した発現という3つのカテゴリーに分類できることを提唱している。神経上皮細胞はニューロメアを越えて移動できないこと、異なるニューロメアの細胞は選別現象をおこすことが知られているが、申請者が発見したカドヘリン11の

分子的性質と発現パターンは、これらの現象を説明する分子の実体の1つとして考えられる。また、カドヘリン11の神経核における発現パターンは、それらの間のシナプス結合と関連することを指摘しており興味深い。

以上の研究により申請者は、新規に同定されたカドヘリン11の解析から、この分子の機能が、間充織の形態形成および脳における神経分節と神経核の形成という2つの側面から重要であると結論づけている。これは、間充織カドヘリンという新しい概念を提出し、また、脳形成におけるカドヘリンの役割に関する仮説を補強する重要な研究である。

よって、申請論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認められる。

なお、主論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。