

氏名(本籍)	はやし 林	ひさき 寿来(大阪府)
学位の種類	博士(農学)	
学位記番号	博甲第2809号	
学位授与年月日	平成14年3月25日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
審査研究科	農学研究科	
学位論文題目	STUDIES ON THE REGULATION OF NEURAL DIFFERENTIATION BY MULTIPLE SIGNALS (複合シグナルによる神経分化制御の研究)	
主査	筑波大学併任教授 (産業技術総合研究所)	工学博士 中村和憲
副査	筑波大学教授	工学博士 田中秀夫
副査	筑波大学教授	農学博士 馬場忠
副査	筑波大学助教授	理学博士 坂本和一
副査	産業技術総合研究所副センター長	薬学博士 今村亨

### 論文の内容の要旨

神経分化とは、未分化の細胞が性質を変えて、神経細胞としての特殊な機能を獲得することである。神経分化という複雑な現象も、細胞同士の情報(シグナル)のやりとりによって制御されている。本研究は、神経分化の様々なレベルでの制御機構を解明する目的で、細胞表面で神経細胞間の接着を間接的に制御する酵素タンパク質に着目し検討するとともに、細胞外から細胞内に神経分化の命令を伝える、増殖因子タンパク質に着目し検討を行った。

脳神経系の発達に伴って起こる各種糖鎖構造の変化は、神経細胞の移動・細胞間の認識・分化において重要な役割を担っており、中でも接着分子N-CAMの糖鎖修飾は、ネットワーク形成に本質的に関わっていると考えられる。脳神経系の発達の解析が進んでいるマウスにおいては、N-CAMの糖鎖修飾に関わると考えられる酵素である $\alpha$ 1-6FUTは、まだクローニングされていなかったため、本研究では、そのcDNAの部分クローニングを行った。

相同性を利用したPCRによって、成体マウス大脳から $\alpha$ 1-6FUTのcDNAをクローニングした。その結果、アミノ酸レベルで、マウスの $\alpha$ 1-6FUTはヒトに対して96%、ブタに対して93%の相同性を有していた。マウス大脳における遺伝子発現レベルは、胎生後期(E13-P1)に発現量が増加し、生後初期(P1-P7)までは高いレベルを保つことが判明した。発現レベルが、出生直後から7日齢まで高いことから、この時期に、マウス大脳において $\alpha$ 1-6FUTによる糖鎖修飾が活発であり、盛んに神経細胞間の接着に関わっていることが考えられた。

神経の発生段階においては、繊維芽細胞増殖因子(FGF)と骨形成タンパク質(BMP)と呼ばれる増殖因子が、ともに未分化細胞の神経細胞への分化を誘導することが知られている。そこで、次に、神経分化制御において、この2種類の増殖因子はどのような関係にあるのかを明らかにするために、ラット由来のPC12細胞を用い、FGFとBMPの相互作用の解析を目的として検討を行った。

PC12細胞がFGFや他の増殖因子の作用によって神経分化する時に、BMPがこの細胞に与える影響を検討したところ、BMPは特異的にFGFによる神経分化を促進することを見出した。BMPと他の増殖因子の組み合わせでは、この現象は確認できなかった。そこで、BMPが、FGFのシグナル伝達に関わる分子に影響を与えていると考え、

FGF 特異的受容体 (FGFR) に着目した。解析の結果、BMP によって、FGFR タイプ 1 (FGFR-1) の発現量が選択的に増加することが確認された。FGF と BMP による相乗的な神経分化の促進は、FGFR-1 の特異的な阻害剤により抑制された。また、BMP で前処理してから細胞を FGF で刺激すると、FGF が惹起する細胞内シグナル強度が強くなった。このことから、FGF と BMP が相乗的に PC12 細胞の神経分化を促進するには FGFR-1 の活性が必要であり、また BMP が FGFR-1 発現量の増加を引き起こして FGF の細胞内シグナルの増強を行うことが、相乗的な分化促進の機構であることが示唆された。この結果から、生理的にも、FGF と BMP という 2 種類の増殖因子は、一方が他方の活性を制御することにより、神経分化という現象を制御しているものと考えられた。

以上のように、神経分化が複数のシグナルによって制御されているという基礎的な知見が得られたが、得られた成果はアルツハイマー病などの退行性神経変性による脳疾患の解明のための基礎資料として有益である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請論文は、神経分化の様々なレベルでの制御機構を解明する目的で、細胞表面で神経細胞間の接着を間接的に制御する酵素タンパク質に着目し検討するとともに、細胞外から細胞内に神経分化の命令を伝える、増殖因子タンパク質に着目し検討を行ったものである。すなわち、初めに、神経細胞の移動・細胞間の認識・分化において重要な役割を担っている接着分子、N-CAM の糖鎖修飾に関係  $\alpha$  1-6 FUT の cDNA のクローニングを行い、その構造を明らかにするとともに、発現レベルが出生直後から 7 日齢まで高いことを明らかにした。この結果は、マウス大脳においては、出生直後に  $\alpha$  1-6 FUT による糖鎖修飾が活発であり、神経細胞間の接着に関わっていることを示唆している。

また、本研究の中心となる、繊維芽細胞増殖因子 (FGF) と骨形成タンパク質 (BMP) と呼ばれる増殖因子の相互関係に関しては、BMP が、FGF のシグナル伝達に関わる分子 FGF 特異的受容体 (FGFR) の発現量に影響を与えていることを明らかにしている。この結果は、これまでには知られていない初めての現象であり、神経分化に関する研究に大きな示唆を与えるものと高く評価できる。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。