



Title	Differential Expression of Notch1 and Notch2 in Developing and Adult Mouse Brain
Author(s)	樋口, 真秀
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39046
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	樋口 まさひで
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第11822号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Differential Expression of Notch 1 and Notch 2 in Developing and Adult Mouse Brain (胎児及び成体マウス脳における Drosophila-Notch 相同遺伝子の発現—in situ hybridization 法による Notch 1 及び Notch 2 発現の比較検討)
論文審査委員	(主査) 教授 早川 徹 (副査) 教授 辻本 賀英 教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

【目的】

Drosophila の Notch 遺伝子は約2,500アミノ酸残基からなる膜貫通蛋白をエンコードし、Drosophila の神経系発生・分化に重要な役割を果たす。即ち、Notch 遺伝子を相同性に欠失した embryo では、外胚葉は epidermoblast へは分化せず、neuroblast にのみ分化するため、神経系の過形成をきたし、胎生期致死となる。脊椎動物にも Notch 相同遺伝子（以下 Notch）が存在し、神経系発生への関与が示唆されている。特に哺乳類では2種以上の Notch が存在し、各々の作用を解明することは高等動物の中核神経系の発生・分化機序を知る上で重要と考える。そこで、cloning して得た2種類のマウス Notch 遺伝子（Notch 1, Notch 2）の cDNA を probe とした in situ hybridization 法により、胎児脳及び成体マウス脳における、2種の Notch の発現の差異を比較検討し、各々の役割について考察した。

【方法】

マウス Notch 2 の全アミノ酸配列を決定する過程で、Notch 1 及び 2 の種々の領域の cDNA を、マウス胚及び胸腺由来の cDNA library から cloning した。それらのうちで、5' 端近傍領域を含み、約600塩基からなる Notch 1 及び 2 の cDNA は、互いに相同性が低く、サザン法で cross-hybridize しないため、特異性の高い probe として用い得ると考えた。そこで両 cDNA を pBluescript SK⁻ plasmid に subcloning した後、in vitro transcription 法により、[α-³⁵S] UTP で標識した riboprobe を作製した。sense probe は plasmid に逆方向に挿入して得、陰性コントロールとして用いた。胎生第10, 12, 14, 16日の全胎児マウスと、生後第0, 7, 14日、及び成体マウスの脳から20 μm の凍結連続切片を作製した後、in situ hybridization 法を施行した。

【成績】

Notch 1 は胎生中期（胎生第10, 12日）の脳では、中枢神経系の前駆細胞が集中して存在する ventricular zone (VZ) にのみ、高度に発現した。しかしその発現は胎生後期（胎生16日）から減少し、生直後の脳室上衣にのみ認められた後、生後7日以後の脳では同定しえなかった。一方、Notch 2 は、胎生中期～成体を通じ、脳の種々の部位で発現を認めた。即ち①胎生期の VZ、及び生後の脳室上衣、②脈絡叢、③脳室周囲器官群の脳弓下器官と最後野、④海馬歯状回顆粒層の最内層、⑤小脳 Purkinje 細胞層の Bergmann グリア、⑥脳軟膜、のそれぞれに Notch 2 の発現を認めた。

【総括】

マウス脳において Notch 1 の発現は、検討した胎生第10日以後では胎生期～生直後に限り、しかもその発現部位は

VZ と脳室上衣のみであった。従って Notch 1 は胎生期に限って脳の発生・分化に関与するか、或いは Notch 1 及び 2 の役割分担が、この時期では不十分であることが示唆された。一方 Notch 2 は、胎生期～生直後のみならず、成体脳の種々の部位でも発現を認めた。このうち、げっし類の海馬歯状回は、成体においても neurogenesis が見られる点で、特徴的である。さらに種々の受容体が存在する、脳弓下器官と最後野に Notch 2 が高度に発現していた。このことは、受容体としての Notch 2 蛋白に対するリガンドが脳脊髄液中にあり、脳脊髄液から脳実質へのシグナル伝達系が存在する可能性を示唆した。以上から、マウスにおいて Notch 2 は、Notch 1 と異なり、脳の発生・分化のみならず、一部成体脳組織の構造・機能維持にも関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

Notch 遺伝子は、*Drosophila* の神経系発生・分化に重要な役割を果たすが、哺乳類には 2 種以上の Notch 相同遺伝子が存在し、高等動物の中枢神経系の発生・分化機序を知る上で注目されている。本論文では、cloning して得た 2 種類のマウス Notch 相同遺伝子 (Notch 1, Notch 2) の cDNA を probe とした *in situ hybridization* 法により、胎児脳及び成体マウス脳における 2 種の Notch の発現の差異を比較検討した結果、極めて興味深い知見が得られた。第 1 点は、胎生期の脳で中枢神経系の前駆細胞が集中して存在する ventricular zone に Notch 1 及び 2 が高度な発現を認めた一方で、成体では Notch 2 の発現を海馬歯状回の顆粒層に見た事である。この領域は、げっし類の成体において neurogenesis が見られる点で、近年注目されているため、Notch 2 は Notch 1 と異なり、胎生期のみならず、成体脳組織の構造・機能維持にも関与することが示唆された。第 2 点は、種々の物質に対する受容体が存在する脳弓下器官と最後野に、Notch 2 の高度な発現を見いだした事である。このことは、受容体としての Notch 2 蛋白に対する未知のリガンドが脳脊髄液中にあり、脳脊髄液から脳実質へのシグナル伝達系が存在する可能性を示唆した点で、貴重な知見である。

以上より、本論文は学位を授与するに値すると認定する。