

Title	Molecular cloning of novel leucine-rich repeat proteins and their expression in the developing mouse nervous system
Author(s)	Taguchi, Akihiko
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3128874">https://doi.org/10.11501/3128874</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	田口明彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 12974 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	Molecular cloning of novel leucine-rich repeat proteins and their expression in the developing mouse nervous system (マウス神経系の発生過程に発現するロイシンリッチリピートを持った新規蛋白質のクローニング)
論文審査委員	(主査) 教授 遠山 正彌  (副査) 教授 三木 直正 教授 宮坂 昌之

## 論文内容の要旨

## 【目的】

神経回路網形成時の細胞認識に関しては細胞接着因子が重要な役割を持っている。胎生期における神経回路網形成は、様々なモデルで多方面より研究されているが、今回我々は細胞接着因子であるロイシンリッチリピート蛋白(LRR 蛋白)に注目して研究を行った。LRR 蛋白とはアミノ酸配列上ロイシンが、ある一定の周期をもって出現する蛋白であり、酵母からヒトにいたるまで多くの生物種で主に細胞外に存在しており、細胞-細胞相互作用に関係していることが示されている。LRR 蛋白の神経系の形態形成に関しては、主にショウジョウバエ等で研究が進められており、LRR ファミリーに属する接着因子(connectin, slit, chaptin等)の突然変異体の検討により、胎生期における形態形成において必須であることが示されている。神経回路網形成における基本的な機構は、種を越えて保存されており、哺乳類においてもLRR 蛋白が神経発生過程において必須の機能を担っていると考え、マウスにおけるLRR 蛋白の同定及びその発現に関して検討した。

## 【方法ならびに成績】

マウスの神経発生過程におけるLRR 蛋白発現の有無を検討するため、出生直後のマウス脳cDNA libraryのスクリーニングを行った。スクリーニングのためのプローブは、アメリカNIHのヒトbrain cDNA library sequencing project (M. D. Adams et al. 1993)で報告された、LRR 蛋白ファミリーに属し、slitと50%のホモロジーを持つクローン(EST06184)を用い、緩徐な条件下でスクリーニングを行った。その結果ロイシンリッチリピートを持つ2つの独立したクローンを得た。それぞれをNLRR-1, NLRR-2と名付け、NLRR-1は全塩基配列を、NLRR-2は部分塩基配列を決定し、DDBJにその塩基配列を登録した。NLRR-1はLRRの繰り返しを12回、NLRR-2は少なくとも3回のLRRの繰り返しを持ち、またNLRR-1はLRRファミリーに特徴的なcarboxy flanking region (CFR)とamino flanking region (AFR)を持つことを示した。

Northern blottingにおける発現の検討では、NLRR-1, NLRR-2共に胎生11.5日より発現し、また、成熟マウスにおける組織分布では脳にのみ、その発現を認めた。

次に、それぞれの胎生期の全身および成熟期の脳における発現を検討するために、cRNAプローブを用い、RI in situ hybridizationによる発現の検討を行った。NLRR-1は脳、脊髄の中樞神経系を中心に、末梢神経系である

dorsal root ganglia, 軟骨組織などに発現するのに対し, NLRR-2は中枢神経である脳, 脊髄にのみ発現を認めた。成熟マウス脳においてはそれぞれ海馬, 小脳を中心に発現していた。

#### 【総括】

マウスにおいても胎生期から成熟期において少なくとも2種類のLRR蛋白が発現, 機能していることを示した。この二つの蛋白はアミノ酸レベルで互いに70%と高いホモロジーであるのに対し, 機能が判明している他のLRR蛋白とは30%以下のホモロジーであることより, LRR蛋白スーパーファミリーの中でサブファミリーを形成していると考えている。また, 現在までにクローニングされているAFRまたはCFRを持つLRR蛋白は, すべて細胞接着か, レセプターとしての機能を持っており, 今回我々がクローニングしたNLRR-1もその構造より細胞接着としての機能を持つと考えている。発現パターンに関しては, ショウジョウバエで見つかっている他のLRR蛋白であるslitやconnectin, chaoptin等らの発現が, 特定の時期の限局された細胞のみであるのに対し, 今回得られたこれらの2つのLRR蛋白は時間的にも空間的にも広範囲の神経細胞に発現しており, これらの蛋白の機能として基本的な神経細胞間の接着に関与している可能性を示唆している。また, 成熟ラットの脳における発現パターンでは海馬, 小脳という可塑性に富んだ部位にその発現が強く認められ, 神経回路のremodeling等と関連する興味深い課題であると考えている。

#### 論文審査の結果の要旨

細胞接着因子であるロイシンリッチリピート蛋白(LRR蛋白)が, ショウジョウバエにおける神経系の形態形成に非常に重要であることは, 現在までの研究で明らかであるが, 哺乳類において, その神経形態形成時の発現に関して検討されたことはなかった。本研究では哺乳類であるマウスにおいて, 神経形態形成時に発現している2種類の新規のLRR蛋白のクローニングを行い, マウスにおいてもLRR蛋白が神経形態形成時に発現機能していることを示した。またそれにより神経の形態形成における基本的な機構は種を越えて共通していることを示したことは重要な意義があり, 学位に値するものと認める。