



Title	Activation of Met Tyrosine Kinase by Hepatocyte Growth Factor Is Essential for Internal Organogenesis in Xenopus Embryo
Author(s)	青木, 俊介
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40739
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	青木俊介
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第13687号
学位授与年月日	平成10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	Activation of Met Tyrosine Kinase by Hepatocyte Growth Factor Is Essential for Internal Organogenesis in Xenopus Embryo (HGFによるMetチロシンキナーゼの活性化はアフリカツメガエル胚の器官形成に必須である)
論文審査委員	(主査) 教授 中村 敏一
	(副査) 教授 谷口 直之 教授 高井 義美

論文内容の要旨

【目的】

昔から腎臓や肝臓、脾臓、肺、などさまざまな臓器・器官の発生には上皮-間葉相互作用とよばれる組織間相互作用が必須であることが知られていたが、その分子的実体は長らく不明であった。HGFは肝再生因子の本体として発見された増殖因子であり、様々な上皮細胞に対して増殖促進・運動促進・管腔形成誘導などの多様な生物活性を有している。とりわけ HGFは器官形成過程において間葉から産生され上皮に働きかけるパラクリン因子として作用することから上皮-間葉相互作用における器官形成に重要な役割を担っていると考えられていた。これまで HGFとそのレセプターである c-Met 遺伝子のノックアウトマウスが作製されたがそのいずれもが胎盤ならびに肝臓形成不全により胎生13-16日で致死となり器官形成における HGF の十分な機能解析は困難であった。本研究では胎盤のない動物であり発生研究における優れたモデル動物として知られるアフリカツメガエルを実験系として用い HGF の器官形成における役割を明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

アフリカツメガエル c-Met/HGF レセプター遺伝子全域をコードする cDNA を分子クローニングしその全構造を決定した。アフリカツメガエル c-Met/HGF レセプターの構造はヒト c-Met と 63% の相同性を有し特にチロシンキナーゼドメインでは 90% 以上と高度に進化的に保存されていた。次にアフリカツメガエル胚発生過程における c-Met の発現パターンをリガンドである HGF の発現パターンと比較して解析を行った。最初アフリカツメガエル胚発生過程において HGFならびに c-Met は原腸胚期に発現がみられその後も器官形成過程を通じて発現が検出された。さらに遺伝子発現の局在を *in situ hybridization* 法で解析したところ c-Met は肝臓や脾臓・腸管の器官原器である前腸領域に局在しており、また将来胚の尾部を形成する領域にも特異的に発現していた。さらにアフリカツメガエル c-Met の細胞内チロシンキナーゼドメインを欠失させたドミナントネガティブ受容体をコードする cDNA を遺伝子工学的に作成し、その mRNA をアフリカツメガエル胚に導入することにより生体内で HGF の機能をブロックする実験を行った。その結果ドミナントネガティブ c-Met mRNA を導入された胚はオタマジャクシまで発生するものの、胚の内臓諸器官の形成と尾部骨格系の形成が異常となることを見いたした。特に内臓臓器においては肝臓が全く形成されず、また腎管の管腔構造が極めて未熟となった。

【総括】

これまでマウス胚を使った研究では HGF と c-Met の遺伝子ノックアウトマウスが作成されたが胎盤と肝臓の形成不全により胎生期致死となり十分な解析が出来ないばかりか *in vitro* の株細胞の研究から予想されていた HGF の上皮管腔形成誘導活性を *in vivo* で証明出来ないという問題点があった。本研究ではアフリカツメガエルを実験系として用いたことにより胎盤形成不全による個体の致死という問題がなく、HGF のシグナルがブロックされた胚を後期発生過程まで解析することが可能であった。本研究結果は HGF が両生類から哺乳類まで肝臓の発生に極めて高度に保存された重要な役割を有していることを示しており、このことは HGF と c-Met/HGF レセプターの分子構造が種をこえて高度に進化的に保存されていることと一致している。また腎管の管腔構造形成不全の結果は HGF が *in vivo* で上皮管腔形成に必須の役割を担っていることを示した最初の結果である。さらに HGF が骨格形成過程に必須の役割を担っていることも示しており、今後、実際に HGF が骨格系を構成する細胞にどのような生物活性をもって働きかけているのかを解析する事が必要であると考えられた。以上の研究から HGF とそのレセプターが仲介する細胞間シグナルは器官の再生のみならず肝臓や腎臓をはじめとする多くの内臓器官の形態形成、さらに骨格形成においても極めて重要な役割を担っていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

HGF とそのレセプターである c-Met は発生過程の器官形成に重要な役割を担っていると考えられていたが、これまで HGF ならびに c-Met のノックアウトマウスが作製されたもののいずれもが胎盤の形成不全により胎生初期に致死となり器官形成における HGF の役割を解析することは困難であった。本論文は胎盤のない動物であり発生研究に古くから用いられてきたアフリカツメガエルを実験系として HGF の器官形成における役割について検討したものである。

アフリカツメガエル HGF ならびに c-Met/HGF レセプターの遺伝子全域をコードする cDNA をクローニングし、その全一次構造を決定した。さらにアフリカツメガエル胚発生過程において c-Met は肝臓や脾臓・腸管の器官原器である前腸領域に局在しており、また将来胚の尾部を形成する領域にも特異的に発現していることを明らかにした。さらにドミナントネガティブ体の c-Met を作成し胚における HGF の機能を特異的にブロックする事で HGF が肝臓形成ならびに腎臓や消化管の管腔形成、さらには骨格系の形成に必須の役割を担っていることを明らかにした。

本研究はアフリカツメガエルを実験系として用いることによりノックアウトマウスでみられた胎盤形成不全による個体の初期致死という問題を回避し、HGF のシグナルがブロックされた胚を後期発生過程まで解析することを可能とした初めての報告である。また HGF の肝臓発生における機能が両生類から哺乳類まで高度に進化的に保存されたものであることを示しており、さらに腎管の管腔構造形成不全の結果は HGF が *in vivo* で上皮管腔形成に必須の役割を担っていることを証明した最初の結果である。このように HGF の生体内での機能を明らかにした成果の価値は高く評価され、本論文は学位論文に値するものと認める。