The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Structure, binding properties, and localization of neuroglycan C, a brain-specific transmembrane chondroitin sulfate proteoglycan with a single EGF module
Author(s)	安田, 陽子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41922
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	安田陽子（やすだ　ようこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　15192　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学位論文名	Structure, binding properties, and localization of neuroglycan C, a brain-specific transmembrane chondroitin sulfate proteoglycan with a single EGF module. （EGF構造を持つ脳特異的コンドロイチン硫酸プロテオグリカン、ニューログリカンCの構造と結合特性、およびその局在）
論文審査委員	（主査） 教　授　中西　康夫 （副査） 教　授　小倉　明彦　　教　授　畠中　寛 発達障害研究所部長　大平　敦彦

論文内容の要旨

神経系特異的に発現する、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン、ニューログリカンC（NGC）の脳神経系構築過程における役割を検討するため、まずヒトNGCのcDNAのクローニングを行った。その結果、ヒトNGCは、ラットNGCと86%のホモロジーを示し、推定される特徴的分子構造も両者は完全に保存されていた。さらに、FISH法による解析から、NGCは第3番染色体上の、3p21.3に存在していることが明かとなった。この周辺で、既知の遺伝性精神・神経疾患を検察した結果、脳性巨人症（Sotos syndrome）が存在することがわかった。

次にラット脳を用いて、細胞におけるNGCの存在部位を細胞分画法により調べたところ、NGCはシナプス小胞、ミエリン、ミトコンドリアに富むP2画分、および細胞膜、ミクロソームに富むP3画分の両画分に存在していた。さらにショ糖密度勾配超遠心法を用いて脳のホモジネートを分画したところ、大脳のNGCは細胞膜上でカベオラとは別の構造体に存在することがわかった。しかし、小脳のNGCでは、このような特殊な構造体での存在は確認されなかった。この結果から、大脳と小脳それぞれに存在するNGCの性質について明細な検討を行ったところ、大脳ではNGCは幼若期から成獣まで、一貫してプロテオグリカン型であるが、小脳では、成獣に達するとNGCの大部分がコンドロイチン硫酸を結合していない非プロテオグリカン型に変化する、すなわちパートタイムプロテオグリカンとして存在していることがわかった。次に、NGCの細胞外基質との相互作用について、ELISA法を用いた解析を行った。その結果NGCのリコンビナントペプチド（コンドロイチン硫酸結合領域）はラミニン、トロンボスポンジンに対し結合性を示すが、組織から抽出されたNGCは、ラミニン、トロンボスポンジンを始めビトロンネクチン、テネイシンのいずれに対しても結合性を示さなかった。これらのことを考え合わせると、NGCはその発現する細胞によって異なった機能を担い、またコンドロイチン硫酸鎖を用いて細胞外の基質との親和性をコントロールしている可能性が示唆された。

NGCのcDNAのシークエンスの結果から推測されたように、NGCがリン酸化酵素の基質となる可能性を検討したところ、プロテインキナーゼC、カゼインキナーゼ2に対して、効率の良い基質となることが明らかとなった。しかし［^{32}P］無機リン酸を用いた脳内インジェクションを行ったところ、生体内ではリン酸化されたNGCの量は極微量であるらしいことがわかった。

マウスの小脳切片を用いた免疫組織学的解析を行ったところ、小脳に存在する細胞のうちで、プルキンエ細胞だけがNGC陽性であった。そして、生後5日には、細胞体上に、また、10日には、細胞体と樹状突起の太い幹の部分に

検出された。成熟小脳では、樹状突起の太い幹の部分にのみみられた。これらの部位は、登上線維がプルキンエ細胞とシナプス形成をする部位である。一方、平行線維がシナプス形成をする細かい分枝上にはNGCは認められなかった。このことから、NGCは登上線維とプルキンエ細胞の樹状突起との接着を仲介するが、平行線維との接着は抑制していることが予想される。

論文審査の結果の要旨

申請者は、神経系に特異的に発現するコンドロイチン硫酸プロテオグリカン、ニューログリカンC（NGC）の構造と脳神経系構築過程における役割を検討した。その結果、ヒトNGCは典型的な膜貫通型領域やEGF様領域をもち、その遺伝子は第3番染色体上に存在することを示した。さらに、NGCは、大脳や小脳の違い、あるいは幼若期であるか成獣であるかにより存在場所や分子の形状も異なること、また糖鎖を持たないものはラミニンなどと結合する活性を持つことなどを見出した。さらに、小脳に存在する細胞の内では、プルキンエ細胞にのみ検出される特徴を示した。

以上のように、本研究は脳神経系形成過程における新奇なプロテオグリカンの構造と役割を検討し、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。