

Title	Localization of novel receptor tyrosine kinase genes of the eph family, MDK1 and its splicing variant, in the developing mouse nervous system
Author(s)	森, 徹自
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44461
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	森 徹 自
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 2 8 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 年 9 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Localization of novel receptor tyrosine kinase genes of the eph family, MDK1 and its splicing variant, in the developing mouse nervous system. (eph ファミリーに属する新規受容体型チロシンキナーゼ MDK1 とそのスプライシング変異体の、マウス神経発生過程における遺伝子発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 彌 (副査) 教 授 米 田 悦 啓 教 授 三 木 直 正

論 文 内 容 の 要 旨

<目的>

eph ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼ (RTK) 遺伝子は、現在知られている RTK ファミリーの中では最大のものであり、その発現パターンなどから、神経発生において何らかの重要な役割を担っていると考えられている。我々はマウスにおいて、このファミリーに属する新規遺伝子を探索、単離してきた。その過程で、MDK1 と、そのスプライシング変異体の一つであり、細胞内チロシンキナーゼドメインを欠く MDK1-T1 を単離した。MDK1 及び MDK1-T1 の神経発生における機能を探るため、マウス発生過程における mRNA 発現パターンを検討した。

<方法ならびに成績>

MDK1 の mRNA 発現量の変化を、マウス発生過程の脳において検討するために、任意の発生段階において Northern Blotting 法を行った。cDNA プローブとして、MDK1 及び MDK1-T1 の両者に共通する部位を用いた。その結果、MDK1 は胎生 12 日 (E12) から adult で発現しているが、生後 7 日目 (P7) の脳で発現のピークが見られる。一方、MDK1-T1 は生直後 (P0) から P7 の脳で最も強く発現していた。

次に、MDK1 及び MDK1-T1 の発生過程の脳内における mRNA の分布を in situ hybridization (ISH) 法を用いて比較検討した。MDK1、MDK1-T1 の cDNA の中で、各々特異的な塩基配列である 3' 末端を用いて、放射性同位元素で標識された cRNA プローブを合成した。E11、E13、E15、E17、E19 の胎児と、P1、P5、及び adult (6 週齢) の脳の凍結切片を作製し、上記の特異的プローブをハイブリダイズさせた。

MDK1 と MDK1-T1 の mRNA は共に中枢神経系、特に前脳に強い発現が見られた。両者の mRNA の発現局在部位は一致していたが、各々のプローブによるシグナル強度は発生段階によって異なっていた。E11 から E13 では、両者の mRNA は、中枢神経系で広範囲に発現が見られた。MDK1 は脳内の広い範囲で発現するが、特に大脳皮質、線条体、視床、小脳原基、延髄部分で特に強い発現が見られた。MDK1-T1 は MDK1 よりも発現が弱い、MDK1 と同じ部位でより限局した部位で発現していた。以後のステージでは両者の発現部位は上記の部位に限局されていた。E15 から E19 では、両者共に大脳皮質の外套層と subplate に発現していた。P1 から P5 では MDK1-T1 の発現は上

昇していた。MDK1 と MDK1-T1 の発現は視床、海馬、小脳のプルキンエ細胞に強く発現し、小脳の顆粒細胞層にも弱く発現していた。P5 では大脳皮質の第3層に強く発現していた。adult では両者ともに発現が減衰していたが、海馬と手綱核に強く発現していた。小脳の顆粒細胞層にも弱い発現が見られた。

末梢神経系では、両者ともに内耳神経上皮、嗅上皮、後根神経節、三叉神経節に強い発現が見られた。

<総括>

Northern Blotting 及び ISH 法によって、eph ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼ MDK1 と、そのスプライシング変異体 MDK1-T1 の mRNA 発現パターンを、発生過程のマウス神経系において時間的、空間的に比較検討した。

Northern Blotting の結果から、MDK1 と MDK1-T1 の mRNA 発現量の変化は異なっていた。このことから、両者の mRNA の厳密な発現調節は神経発生において重要であると考えられる。

ISH の結果から、MDK1 と細胞内チロシンキナーゼドメインを欠く MDK1-T1 の発現領域は重複していた。よって、MDK1-T1 は MDK1 のチロシンキナーゼ活性を抑制的に調節している可能性が示唆された。

また、eph ファミリーの特徴として、細胞外ドメインに1つの Ig 様モチーフと、2つの fibronectin type III 様モチーフを持っている。このことから、MDK1-T1 は細胞接着因子として機能している可能性もある。

以上のことから、MDK1 と MDK1-T1 は、神経発生においてそれぞれ何らかの重要な機能を担っている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、近年神経系の発生過程に於いて、その重要性が明らかになってきている Eph ファミリー受容体に属する MDK1 (EphA7) と、その splicing variant である MDK1-T1 の神経発生における機能を解析したものである。Eph ファミリー受容体の中にも、splicing variant が存在するものも知られているが、それらの mRNA 発現パターンを含めて、full length と splicing variant の機能の違いを考察した研究は余り行われていないのが実情である。Northern blotting の結果から、MDK1 と MDK1-T1 の遺伝子発現は、発生過程で厳密に調節されていることがわかった。この事は、両者がそれぞれ異なった機能を担っている可能性を示唆している。また、in situ hybridization によって、in vivo での両者の発現領域が神経系の発生過程全体を通じてほぼ重複していることがわかった。NGF 受容体など、他の受容体型チロシンキナーゼの中にもキナーゼドメインを欠く splicing variant の存在が示され、それが dominant negative として働くことが知られているが、恐らく MDK1 の場合も同様のことが言えると考えられる。Eph 受容体のリガンドとして、膜結合型蛋白の ephrin が知られているが、MDK1-T1 は、シグナル伝達よりも、むしろ細胞接着に関与する可能性が考えられた。

これらの結果から、full length の MDK1 と splicing variant の一つである MDK1-T1 の機能の違いを初めて考察し、神経発生に対する Eph ファミリー受容体の重要性を明らかにした点で、学位研究論文に値すると考えられる。