

Title	Regulation of axonal CNR/Protocadher in $\alpha$ family expression in the developing nervous system
Author(s)	森下, 博文
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45399">https://hdl.handle.net/11094/45399</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	もり した ひろ ふみ 森 下 博 文
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19259 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Regulation of axonal CNR/Protocadherin $\alpha$ family expression in the developing nervous system (神経回路形成期における CNR/Protocadherin $\alpha$ ファミリーの軸索発現制御)
論文審査委員	(主査) 教授 八木 健 (副査) 教授 津本 忠治 教授 高井 義美

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔 目 的 〕

複雑かつ高度に組織化された神経回路の形成過程においては、その基盤となる多様化膜蛋白質の存在が想定される。我々はその候補として Cadherin-related Neuronal Receptor/Protocadherin  $\alpha$  (CNR/Pcdh  $\alpha$ ) ファミリーに着目してきた。CNR/Pcdh  $\alpha$  ファミリーは、マウスでは 14 種類より構成され、神経特異的な発現を示す多様化カドヘリン様膜蛋白質である。ファミリー内において多様化した領域はカドヘリンモチーフを有する細胞外領域に集中していることから、CNR/Pcdh  $\alpha$  ファミリーはその細胞外領域を利用して神経回路形成過程に関わる可能性が考えられている。しかし実際の回路形成期における発現は不明であった。本研究では、マウス神経回路形成過程における CNR/Pcdh  $\alpha$  ファミリー蛋白質の発現変化を詳細に解析し、かつその発現制御機構を明らかにすることで、神経回路形成への関与の可能性を検討した。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

##### 神経回路形成期における CNR/Pcdh $\alpha$ ファミリー蛋白質の神経軸索発現

我々は、全ての CNR/Pcdh  $\alpha$  ファミリーに共通に含まれる細胞内領域に対する抗体とプローブを新たに作成し、これらを用いて免疫組織染色、*in situ* hybridization を行った。大脳皮質においては、出生前後の回路形成期に一致して、神経繊維が存在する intermediate zone、や subplate において CNR/Pcdh  $\alpha$  蛋白質の局在を認めた。またこれらの領域での神経繊維マーカーとの 2 重染色により、視床-皮質路、皮質遠心路の軸索、ならびに、両繊維の形成に重要な役割を果たすことが知られている subplate 神経細胞での発現を認めた。Subplate 神経細胞における発現については、subplate マーカー (CSPG、もしくは胎生 11 日前後における BrdU 標識) と CNR/Pcdh  $\alpha$  との 2 重標識、ならびに *Reeler* マウスにおける subplate 神経細胞の位置異常に対応した CNR/Pcdh  $\alpha$  の局在の変化により確認された。なお CNR/Pcdh  $\alpha$  ファミリーは、大脳皮質以外の領域においても、出生前後に主要軸索繊維に強い局在を認め、神経回路形成過程に対応した軸索発現が明らかとなった。

##### ミエリン化による CNR/Pcdh $\alpha$ 蛋白質の神経軸索発現制御

我々は引き続き、出生前後で強い軸索発現を示す CNR/Pcdh  $\alpha$  ファミリー蛋白質の、その後の神経回路成熟過程

における局在変化を解析した。その結果、強い発現の見られた内包、Lateral Olfactory Tract、視索といった主要軸索繊維において、生後一週間前後より急激な発現の減衰を認め、CNR/Pcdh  $\alpha$ ファミリーの神経回路形成・成熟過程に対応した軸索発現制御の存在を確認した。

なお、CNR/Pcdh  $\alpha$ 蛋白質の軸索からの減衰は、ミエリン関連蛋白質の発現上昇と対応していた。そこでミエリン形成不全を有するシバラーマウスにおける CNR/Pcdh  $\alpha$ の発現を解析した所、視神経軸索において CNR/Pcdh  $\alpha$ 蛋白質の減衰の遅れを認めたことから、ミエリン化が CNR/Pcdh  $\alpha$ 蛋白質の軸索からの減衰の誘因になっていることが明らかとなった。以上の正常発達過程、ならびにミエリン形成不全状態における CNR/Pcdh  $\alpha$ ファミリーの発現変化は、神経回路形成との関与が知られている L1 や GAP-43 といった分子の挙動と類似していた。

#### [ 総括 ]

CNR/Pcdh  $\alpha$ は神経回路形成期に一致して神経軸索に強い局在を示した。とりわけ大脳皮質の発達過程において CNR/Pcdh  $\alpha$ の発現が確認された subplate 神経細胞は、その破壊実験の結果、視床から皮質への繊維投射異常、大脳皮質における機能単位である眼優位性カラム、方位選択性カラムの形成不全を来すことが知られており、subplate 神経細胞には回路形成の特異性を担う多様化した膜分子が存在するのではないかと想像されてきた。この点からも多様化した CNR/Pcdh  $\alpha$ ファミリーが subplate 神経細胞に発現していることは興味深い。

また CNR/Pcdh  $\alpha$ 蛋白質は、出生後の神経回路成過程においては発現が減衰するという一過性の発現制御が存在することを確認した。この発現の減衰には、ミエリン化による制御機構が存在することが明らかとなった。

以上のことから CNR/Pcdh  $\alpha$ ファミリーの発現とその制御機構は、神経回路の形成・成熟過程に密接に関連していることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

申請者らは、神経回路形成過程の分子基盤の解明のため、神経特異的発現を示す多様化カドヘリン様膜蛋白質群である CNR/Protocadherin (Pcdh)  $\alpha$ ファミリーに着目し、その神経回路形成期における発現変化と制御機構を解析した。その結果、出生前後に大脳皮質入出力繊維を含む、主要軸索繊維に強い局在を認め、神経回路形成過程に対応した軸索発現が明らかとなった。また CNR/Pcdh  $\alpha$ 蛋白質は、出生後の神経回路成熟過程においては発現が減衰するという一過性の発現制御が存在することを確認した。この発現の減衰には、ミエリン化による制御機構が存在することが明らかとなった。これらの結果は、CNR/Pcdh  $\alpha$ ファミリーの発現とその制御機構が、神経回路の形成・成熟過程に密接に関連していることを示唆しており、神経回路形成過程における新たな多様化分子基盤の一端を明らかにしたもので、学位の授与に値するものとする。