The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Contacts between the commissural axons and the floor plate cells are mediated by nectins
Author(s)	岡部, 範子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45537
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

【30】

氏　　名	岡　部　範　子（おかべ　のりこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１９２６３　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 医学系研究科生体制御医学専攻
学　位　論　文　名	Contacts between the commissural axons and the floor plate cells are mediated by nectins （ネクチンによる交連性ニューロンとフロアープレート細胞の接触）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　高井　義美 （副査） 教　授　津本　忠治　　教　授　三木　直正

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕

個体発生時の神経回路網形成過程において、神経管の背側で分化した一群の神経細胞は、腹側正中線の底板（フロアープレート：FP）に向けて軸策を伸ばし、さらに FP を越えて反対側へと投射する。交連性ニューロンの軸索と FP 細胞の接触は腹側正中交差の制御に関与すると考えられているが、この接触および腹側正中交差の分子機構は明らかではない。ネクチンは、カルシウム非依存性のイムノグロブリン様の細胞間接着分子であり、ネクチン-1、-2、-3、-4 の４つのメンバーからなるファミリーを構成している。ネクチンはホモのトランス結合とともに、ネクチン-3 はネクチン-1、-2 と、ネクチン-4 はネクチン-1 というようにヘテロのトランス結合も形成し、異種細胞間の接着に関与することが示唆されている。本研究では、ネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合が FP における交連性ニューロンの軸索の腹側正中交差に関与しているかについて解析した。

〔方法ならびに成績〕

FP におけるネクチン-1 および-3 の局在の検討

マウス胎仔の組織を用いて免疫染色を行ない、ネクチン-1 および-3 の局在を検討した。胎生９日目、腹側正中線上に FP 細胞が出現すると同時に、ネクチン-3 の FP 細胞間接着部位への濃縮を認めた。胎生 10 日目、交連性ニューロンが腹側正中線を通過すると考えられる時期、FP 細胞と軸索の接触部位にネクチン-1 と-3 の共局在を認めた。さらに、FP の発達に伴って、ネクチン-1 および-3 の発現量は増加し、FP が消失すると考えられる出生直前にはネクチンの発現も低下した。以上の結果から、ネクチン-1 および-3 が FP 部位に濃縮していることが明らかとなった。

FP におけるネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合の存在の検討

マウス胎仔の組織を用いて in situ hybridization を行ったところ、FP 細胞体にはネクチン-3 が特異的に発現していた。さらに、ネクチン-1 の細胞内を認識する抗体で免疫電顕を行ったところ、ネクチン-1 が軸索側にのみ局在していた。以上の結果から、ネクチン-1 は交連性ニューロンの軸索に、-3 は FP 細胞に非対称に局在し、交連性ニューロンの軸索と FP 細胞の接触は、ネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合によって形成されていることが示唆された。

FP におけるアファディンおよびアクチン骨格系の存在の検討

これまでに、ネクチンはアクチンフィラメント結合タンパク質アファディンを介してアクチン細胞骨格に連結することが示されている。マウス胎仔の組織において免疫染色を行ったところ、FP の接触部位にはアファディン、アクチン、その他のアクチン結合タンパク質の濃縮は認められなかった。また、形態電顕を用いて接触部位の構造を観察したところ、電子密度の高いアドヘレンスジャンクション様の構造は見られなかった。以上の結果から、交連性ニューロンの軸索と FP 細胞の接触部位はアクチン細胞骨格で裏打ちされていないことが示唆された。

ネクチンのヘテロトランス結合の破綻による交連性ニューロンの走行への影響についての検討

ラット胎仔の後脳・髄脳部分の組織培養を行い、交連性ニューロンの軸索走行の発達を観察した。またこの組織培養において、ネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合を阻害する阻害剤、ネクチン-3 の細胞外領域のキメラタンパク質と glycoprotein D、を加えて培養し、その効果を検討した。その結果、阻害剤によって軸索と FP 細胞の接触が破綻し、軸索同士の異常接触が認められた。また、DiI ラベルした軸索の走行を観察すると、正中線を越えて水平方向から垂直方向に向きを変える部位での走行異常が認められた。以上の結果から、ネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合による接触が軸索走行の方向性の制御に関与していることが明らかとなった。

〔総括〕

ネクチン-1 と-3 が交連性ニューロンと FP 細胞の接触部位にそれぞれ非対称に局在し、ヘテロトランス結合を形成していることを明らかにした。また、ネクチンのヘテロトランス結合を阻害することにより、軸索と FP 細胞の接触が破綻し、軸索走行が異常になることを見出した。以上の結果から、FP の接触はネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合により形成され、ネクチンによる接触が軸索走行の方向性の制御に関与していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

個体発生時の神経回路網形成過程において、神経管の背側で分化した一群の神経細胞は、腹側正中線の底板（フロアープレート）に向けて軸策を伸ばし、さらにフロアープレートを越えて反対側へと投射する。交連性ニューロンの軸索とフロアープレート細胞の接触は腹側正中交差の制御に関与すると考えられているが、この接触および腹側正中交差の分子機構は不明であった。

申請者は本研究において、交連性ニューロンとフロアープレート細胞の接触部位に細胞間接着分子であるネクチン-1 と-3 がそれぞれ非対称に局在し、ヘテロトランス結合を形成していることを明らかにした。また、ネクチンのヘテロトランス結合を阻害することにより、軸索とフロアープレート細胞の接触が破綻し、軸索走行が異常になることを見出した。以上の結果から、FP の接触はネクチン-1 と-3 のヘテロトランス結合により形成され、ネクチンによる接触が軸索走行の方向性の制御に関与していることを明らかにした。

本研究は、神経発達のメカニズムを解明する上で重要であり、実験結果自体の意義だけでなく、今後の研究への発展も期待できる。したがって、博士（医学）の学位授与に値する。