



Title	Distinct functions of human Numb isoforms revealed by misexpression in the neural stem cell lineage in the Drosophila larval brain.
Author(s)	鳥谷, 真佐子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46252
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 ^{とり}鳥 ^や谷 ^ま真 ^さ佐 ^こ子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19827 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 10 月 19 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 Distinct functions of human Numb isoforms revealed by misexpression in the neural stem cell lineage in the *Drosophila* larval brain.
(ショウジョウバエ幼虫脳の神経幹細胞におけるヒト Numb スプライシングアイソフォームの異なる機能の解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 内 山 安 男

(副査)

教 授 近 藤 寿 人 教 授 濱 田 博 司

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

Numb は、無脊椎動物から脊椎動物に至るまで、種間で保存された遺伝子ファミリーであり、phosphotyrosine-binding (PTB) ドメインと proline-rich region (PRR) を有する蛋白質をコードする。Numb ファミリーは、神経発生の多くの局面で重要な役割を果たすことが示されているが、未だにその分子メカニズムには不明の点が少なくない。ショウジョウバエ末梢神経系における解析から、Numb は Notch シグナルを抑制し、神経分化に促進的に働くことが示されている。一方、哺乳類 Numb は、神経分化促進作用を有するのみならず、神経前駆細胞の未分化性の維持に関わることが示唆されており、このような多面的な機能は、単に Notch シグナルの抑制だけでは、説明することはできない。近年、哺乳類 Numb には alternative スプライシングにより、ショウジョウバエでは存在しない多様性が存在し、スプライシングアイソフォームのうち、C 末の PR 領域の短いタイプ (PRRS) (ショウジョウバエ Numb に相当する) は神経分化を促進し、PR 領域の長いタイプ (PRRL) は増殖を促進することが、培養細胞を用いて示された。これらの哺乳類 Numb スプライシングアイソフォームがそれぞれ異なる機能を持つことが、哺乳類 Numb の多面的な機能を説明する鍵となることが期待されるが、これらのアイソフォームと Notch の関係は明らかにされていない。本研究では、ショウジョウバエ幼虫脳の視覚原基に存在する神経幹細胞を、哺乳類神経幹細胞のモデルとして、哺乳類 Numb の PRRS および PRRL が神経幹細胞の増殖・分化に及ぼす効果を、細胞系譜を追って詳細に解析した上で、Notch シグナルと PRRS、PRRL、それぞれとの関係を検討した。

[方法ならびに成績]

a) ショウジョウバエ幼虫脳、視覚原基におけるヒト Numb-PRRS, PRRL の強制発現

ショウジョウバエ幼虫期中枢神経系の視覚原基に存在する神経上皮細胞は対称分裂により増加したのち、ニューロblastになる。ニューロblastは非対称分裂により自己複製を行いながら、ganglion mother cell (GMC) を作り出す。GMC はさらに対称分裂を一度行い、神経細胞に分化する。細胞系譜を追って詳細に解析を行うために、FRT/FLP, GAL4/UAS 両システムを組み合わせた FRT/GAL4 システムを用い、actin-promoter 制御下で PRRS または PRRL を持続的に発現する細胞群を視覚原基にランダムに作成した。その結果、PRRS は神経上皮細胞とニュー

ロブラストの増殖を抑制した。また PRRS はニューロブラストの未分化性の維持を阻害し、神経分化を促進した。一方、PRRL は神経上皮細胞とニューロブラストの分裂を促進したが、神経分化は抑制しなかった。これらの結果から、PRRS は神経幹細胞の増殖を抑制し神経分化を促進するものの、PRRL は神経分化に影響を与えずに増殖を促進する機能を有することが示唆された。

b) ヒト Numb-PRRS, PRRL とショウジョウバエ活性型 Notch の共発現

次に PRRS および PRRL と Notch シグナルとの関係を検討した。活性型 Notch の強制発現により神経分化が抑制されたが、PRRS と活性型 Notch の共発現を行うと、神経細胞はほぼ正常に分化した。一方、PRRL と活性型 Notch の共発現を行うと、ニューロブラストの過増殖とともに、神経分化の抑制が見られた。このとき、PRRS は強制発現した活性型 Notch の核内局在を著しく減少させていたが、PRRL は一部を減少させたにすぎなかった。

c) ショウジョウバエ Numb 変異体の、ヒト Numb-PRRS, PRRL によるレスキュー

幼虫脳視覚原基において、ショウジョウバエ Numb が欠失すると神経分化が抑制される。このショウジョウバエ Numb の欠失による表現型を、PRRS はほぼ完全に回復させたが、PRRL はほとんど回復させなかった。

[総括] 以上の結果から、哺乳類 Numb-PRRS はショウジョウバエ Numb と同様に、Notch シグナルを抑制することで神経分化を促進することが考えられる。一方、PRRL は Notch のように神経分化を抑制しないことから、Notch シグナルに積極的な影響を与えずに、何らかの別の経路を介して神経幹細胞の増殖を促進することが考えられる。

論文審査の結果の要旨

Numb ファミリーは、神経発生の多くの局面で重要な役割を果たすことが示されているが、未だにその分子メカニズムには不明の点が少なくない。

Numb は phosphotyrosine-binding (PTB) ドメインと proline-rich region (PRR) を有し、この二つの領域の長短に違いのあるスプライシングアイソフォームが存在することが知られている。

本論文では、ヒト Numb のスプライシングアイソフォームのうち、PRR の短いタイプ (PRRS: ショウジョウバエ Numb に相当) と長いタイプ (PRRL) を、ショウジョウバエの幼虫期の視覚原基に存在する神経幹細胞において強制発現し、細胞系譜を追ってその表現型を解析した。その結果、PRRS は神経分化を促進し、PRRL は神経分化を抑制することなく神経幹細胞の増殖を促進することを示した。次に、視覚原基において、活性型 Notch の強制発現は神経分化を抑制することを見いだした。活性型 Notch と PRRS または PRRL を共に強制発現した結果、PRRS は Notch タンパク質の核内での蓄積を顕著に減少させ、神経分化を誘導したが、PRRL は PRRS ほど Notch タンパク質の核内での蓄積を減少させず、神経分化は抑制しないまま、神経幹細胞の増殖を促進した。幼虫脳視覚原基において、ショウジョウバエ Numb が欠失すると神経分化が起きないが、PRRS を発現させると、ショウジョウバエ Numb を発現させた場合と同様に、この表現型を回復させ神経分化を誘導した。しかしながら、PRRL は PRRS ほど神経分化を誘導しなかった。これらの結果から、脊椎動物中枢神経系において、PRRS はショウジョウバエ Numb と同様に Notch シグナルを抑制することで、神経分化を促進し、ショウジョウバエにはないスプライシングアイソフォームである PRRL は Notch シグナルを抑制することなく、別の経路を介して神経前駆細胞の増殖を促進する可能性が示唆された。これらの結果は、脊椎動物における中枢神経系発生制御メカニズムの解明への手がかりとなるものであり、本研究が学位に値するものと認める。