

Title	Regulation of N-cadherin expression in neural and placodal development
Author(s)	松股, 美穂
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46492
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"〉 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	まつ 松 股 美 穂
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 19796 号
学位授与年月日	平成 17 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Regulation of N-cadherin expression in neural and placodal development (神経系及びブラコード形成における、N-cadherin の発現制御機構の解明)
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 寿人 (副査) 教授 八木 健 教授 岡田 雅人

論 文 内 容 の 要 旨

神経系及び感覚器は、外胚葉上のある領域が肥厚・陥入して生じる、新たな外胚葉性構造物である神経管及び感覚器ブラコードから形成される。接着因子 N-cadherin はその新たな構造体で発現されるようになる因子の一つである。私達は、N-cadherin の発現が神経管やブラコードの形成に密接に関わっていると考え、N-cadherin 制御の分子メカニズムを明らかにしようとした。

1) エンハンサーの同定

神経管及びブラコードの形成時という時期領域特異的なエンハンサーを得るため、遺伝子全長 114 kb を含む 220 kb の遺伝子領域を網羅的にスクリーニングしエンハンサー活性を調べた。その結果、5 個の異なった位置にあるエンハンサーを同定し、上流側から 1～5 と命名した。エンハンサー 1～4 は神経系及び水晶体由来の細胞で活性があったが、エンハンサー 5 は本来活性のない細胞でも活性が見られた。また、発生初期でのエンハンサー活性をニワトリ初期胚に導入して調べたところ、エンハンサー 2～4 は初期胚でも活性を有することがわかった。

2) 神経系、ブラコードでの N-cadherin 発現への GroupB1SOX の関与

水晶体で非常に強い活性を持つエンハンサー 4 を狭めていき、30 bp からなる最小のエンハンサー領域 (AS38) を同定した。AS38 に塩基置換変異を導入してエンハンサーの活性に必要な領域を特定したところ、転写因子 SOX の結合配列を含んでいた。AS38 の活性が認められた水晶体からの核抽出物に GroupB1SOX (SOX1/2/3) が存在し、また AS38 の SOX 結合配列に塩基置換を導入すると SOX1/2/3 が結合できないことから、AS38 の活性化に GroupB1SOX が関わる事が強く示唆された。

エンハンサー 2 と 3 についても同様に活性を持つ領域を狭め、また GroupB1SOX のエンハンサー活性への関与を調べた。その結果、やはりこれらのエンハンサーの活性化にも GroupB1SOX が関与することが示唆された。

次に、GroupB1SOX の中で特に神経系及び感覚器での発現が知られている *Sox2* について、初期胚における発現を *N-cadherin* と比較した結果、神経系及びブラコードでは *Sox2* の発現を追従するようにステージ 1 つ分遅れて

N-cadherin が発現されていた。

最後に *Sox2* が *N-cadherin* の発現を誘導することが出来るか、*Sox2* の強制発現によって確認した。その結果、*Sox2* を強制発現した領域で *N-cadherin* の異所的な発現が見られ、その領域の細胞が凝集しているのが観察された。

3) ニワトリ *N-cadherin* 遺伝子のヒト、マウスとの比較

N-cadherin 遺伝子を、ニワトリ、ヒト、マウス間で比較したところ、エンハンサー1、2についてはヒト、マウスとも高い相同性で保存されていたが、残りのエンハンサーはあまり保存されていなかった。また、今回私が同定したエンハンサー以外に3種の動物種で保存された領域がいくつか存在し、これらの領域はその他の組織でのエンハンサーなのではないかと推測される。

論文審査の結果の要旨

申請者は、胚発生の過程で中枢神経系原基や感覚器原基の組織構築に重要な役割を果たす細胞接着因子 *N-cadherin* の遺伝子が、どのような発現制御を受けるのかを研究した。

そのために、(1)まず 100 kb 以上のゲノム領域の中に含まれるエンハンサー群を、ニワトリ胚や胚組織への遺伝子導入を活用して系統的かつ網羅的に検出する方法を開発し、(2)その方法を駆使して、*N-cadherin* 遺伝子を含む 220 kb のゲノム領域を解析して、(3)胚の神経系で活性をもつ5個のエンハンサーを同定した。更に、(4)それらのうち3個のエンハンサーは神経系の成立を支配すると考えられている転写調節因子 *SOX2* に直接的に制御を受けることを示した。

本研究は、胚の組織構築に重要な細胞接着因子がうける多様な制御の基盤を明らかにするとともに、*SOX2*、*N-cadherin* という、神経系成立に必須である2遺伝子の直接の関連を示したものであり、発生生物学における貢献は大きい。博士(理学)の学位に値するものと認める。