



Title	A CTX Family Cell Adhesion Molecule, JAM4, Is Expressed in Stem Cell and Progenitor Cell Populations of both Male Germ Cell and Hematopoietic Cell Lineages
Author(s)	永松, 剛
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47470">https://hdl.handle.net/11094/47470</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照</a> 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	ながまつごう 永松剛
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20953 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	A CTX Family Cell Adhesion Molecule, JAM4, Is Expressed in Stem Cell and Progenitor Cell Populations of both Male Germ Cell and Hematopoietic Cell Lineages. (雄生殖系、造血系ともに幹細胞と前駆細胞に発現している CTX ファミリー分子 JAM4 の機能解析。)
論文審査委員	(主査) 招へい教授 和田 芳直  (副査) 教授 岡部 勝 教授 高倉 伸幸

### 論文内容の要旨

#### 〔 目 的 〕

幹細胞は、多数の分泌および膜タンパクから成るニッチとして知られている微小環境と相互作用することによって、未分化性を維持していると考えられている。その際に関与する分子を明らかにするため我々は雄生殖幹細胞からシグナルシーケンストラップ法により分泌および膜タンパクをコードしている遺伝子を単離した。それらの単離した遺伝子の一つである JAM4 (Junctional Adhesion Molecule 4) の生体内での機能の解析を目的とした。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

転写因子 Oct-4 は、胎生期では、受精卵の胚盤胞内部細胞塊 (ICM)、エピブラストといった細胞に発現しているが、後に始原生殖細胞 (PGC) に特異的に発現し、生後においても生殖系列の細胞に特異的に発現している。我々はこの Oct4 発現調節領域を利用して、緑色蛍光蛋白 (GFP) を発現するトランスジェニックマウス (Oct4-GFP マウス) を作出し、GFP (Oct-4) を発現する細胞の中に精巣幹細胞 (未分化型精原細胞) が高頻度に含まれていることを移植の系により明らかにした。次に、これら Oct-4 陽性純化精巣幹細胞を利用し、組織幹細胞に共通に発現し、かつ、ニッチを構成する分子を明らかにすることを試みた。そのために、純化精巣幹細胞 cDNA ライブラリーを、膜蛋白、分泌蛋白をコードする遺伝子を特異的に単離する方法論であるシグナルシーケンストラップ法に応用し遺伝子単離を行った。得られてきた分子のなかで、造血幹細胞にも発現している分子に絞り込んだ。その結果、最近免疫グロブリン型膜蛋白分子として報告された JAM4 が得られた。本分子は精巣幹細胞、造血幹細胞の両幹細胞分画に共通して発現しており、分化とともに発現が消失する。本分子に対する特異抗体を作成し、免疫染色を行ったところ、新生児期精巣において生殖細胞に発現が認められた。

JAM4 の生体内での機能を調べるため JAM4 欠損マウスを作製した。しかし、JAM4 欠損マウスの精巣の組織学的分析では明らかな異常がみられなかった。同様に JAM4 の発現の高い臓器である肝臓と腎臓の組織の解析においても明らかな異常は見られなかった。さらに JAM4 欠損マウスの骨髄中の造血幹細胞の数を調べたが、この点においても

野生型に比べて顕著な差はみられなかった。

#### [ 総 括 ]

Oct4-GFP マウスの新生児精巣から純化した幹細胞を用いて、ニッチとよばれる微小環境との相互作用に注目し、幹細胞の未分化性の維持に関わる分子を探索した結果、免疫グロブリン型膜タンパクである JAM4 の単離に成功した。JAM4 の生体内での機能を調べるために JAM4 欠損マウスを作製した。しかし、JAM4 欠損マウスは精巣、造血系、腎臓、そして肝臓、と JAM4 の発現が見られるいずれの臓器においても明らかな異常を示さなかった。この結果は JAM4 欠損マウスにおいては他の細胞接着分子が機能を代償している可能性を示唆するものであった。JAM4 は CTX (cortical thymocyte marker of the *Xenopus*) ファミリーに属しており、その中でも ESAM (endothelial cell-selective adhesion)、CAR (coxsackievirus and adenovirus receptor) という分子とホモロジーが高い。しかし、これらの分子の幹細胞における発現そして機能についての報告はない。これらの分子の幹細胞における発現を確認し、JAM4 の機能を代償しうるのか調べることは今後の課題である。

一方で、JAM4 は幹細胞で発現しているものの生体内ではほとんど機能がない可能性も考えられ、幹細胞の未分化性維持機構に迫っていくには別のアプローチを考えることも必要かもしれない。

また、JAM4 の機能という観点からは最近ラットの蛋白尿モデルにおいて腎臓の有足細胞で JAM4 の発現が変化するという報告があり、そのような病的な状態において JAM4 が重要な働きをしている可能性も示唆されている。JAM4 欠損マウスを用いて、腎臓に付加をかけて変化を調べることも今後の課題である。

### 論文審査の結果の要旨

幹細胞は、多数の分泌および膜タンパクから成るニッチとして知られている微小環境と相互作用することによって、未分化性を維持していると考えられている。その際に関与する分子の同定を目的とした。

転写因子 Oct-4 は、胎生期では、受精卵の胚盤胞内部細胞塊 (ICM)、エピプラストといった細胞に発現しているが、後に始原生殖細胞 (PGC) に特異的に発現し、生後においても生殖系列の細胞に特異的に発現している。我々はこの Oct4 発現調節領域を利用して、緑色蛍光蛋白 (GFP) を発現するトランスジェニックマウス (Oct4-GFP マウス) を作出し、GFP (Oct-4) を発現する細胞の中に精巣幹細胞 (未分化型精原細胞) が高頻度に含まれていることを移植の系により明らかにした。

本論文では、これら Oct-4 陽性純化精巣幹細胞を利用し、組織幹細胞に共通に発現してニッチを構成する分子を明らかにすることをめざした。そのために純化精巣幹細胞 cDNA ライブラリーを、膜蛋白、分泌蛋白をコードする遺伝子の特異的に単離する方法であるシグナルシークエンストラップ法に応用して遺伝子単離をおこなった。得られてきた分子のなかで、精巣幹細胞のみならず造血幹細胞にも発現している分子に絞り込んだ。その結果、免疫グロブリン型膜蛋白分子として報告された JAM4 (Junctional Adhesion Molecule 4) が得られた。JAM4 に対する特異抗体を用いて、免疫染色を行ったところ、新生児期精巣において生殖細胞に発現が認められた。

次に、JAM4 の生体内での機能を調べるため JAM4 欠損マウスを作製した。しかし、JAM4 欠損マウスの精巣の組織学的解析では明らかな異常がみられなかった。同様に JAM4 の発現の高い臓器である肝臓と腎臓の組織の解析においても明らかな異常は見られなかった。さらに JAM4 欠損マウスの骨髄中の造血幹細胞の数を調べたが、この点においても野生型に比べて顕著な差はみられなかった。このように、JAM4 欠損マウスは本来発現が見られるいずれの臓器においても明らかな異常を示さなかった。

この結果は JAM4 欠損マウスにおいては他の分子が機能を代償している可能性を示唆するものであった。

以上のように、JAM4 が精巣、造血各幹細胞で発現していることを示し、欠損マウスの作製により生体内での作用を解析したことは学位論文に値する。