



Title	Regulatory mechanisms of epidermal growth factor receptor signaling in cortical progenitor cells
Author(s)	藤本, 泉
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/56062
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (藤 本 泉)	
論文題名	Regulatory mechanisms of epidermal growth factor receptor signaling in cortical progenitor cells (大脳皮質前駆細胞における上皮成長因子受容体シグナルの制御機構)
論文内容の要旨 哺乳類の脳発生において上皮成長因子 (EGF) と塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は、神経幹細胞の増殖能と多分化能の維持に不可欠な成長因子である。大脳皮質前駆細胞 (CPC) は脳発生の早期にはbFGFに反応して活発に細胞増殖を行いながらニューロン前駆細胞に分化し、後期にはEGFに反応してグリア前駆細胞に分化する。受容体型チロシンキナーゼである上皮成長因子受容体 (EGFR) は、CPCの増殖や分化を制御しているが、その制御機構は未だ不明な点が多い。Necdinはmelanoma antigen (MAGE) ファミリーに属する蛋白質で、哺乳類のニューロンやCPCの増殖やアポトーシスを抑制し、分化や生存を促進する。本研究ではnecdinがEGFRシグナル伝達系に及ぼす影響について検討した。 マウス胎仔の大脳皮質から調製したCPCにおけるnecdinとEGFRの相互作用を、蛍光免疫染色法と免疫沈降法で検討すると、necdinはEGFによって活性化された状態のEGFRだけに結合した。EGFRとnecdinの結合部位を検討した結果、necdinは自己リン酸化された活性型EGFRとチロシンキナーゼ領域 (TKD) を介して結合した。興味深いことに、necdinは自己リン酸化を受けるC末端領域を欠失したEGFR変異体には、野生型EGFRよりも強く結合した。このことは、脱リン酸化状態のC末端領域は、necdinとTKDの結合を阻害することを示唆する。次に、necdin遺伝子欠失変異 (Ndn KO) マウスを用いて、内在性necdinによるEGFRシグナル伝達系の変化を検討した。その結果、Ndn KO CPCでは、ERK1/2のリン酸化レベルが有意に増強していた。さらに、necdinは活性化されたEGFRのTKDに結合することによって、RAS/ERK経路の上流にあるアダプター蛋白質Grb2とEGFRの結合を減弱させた。このことから、necdinはEGFR/RAS/ERK経路を介するシグナル伝達を抑制するものと考えられる。また、EGF存在下で培養したNdn KOマウス由来のCPCではDNA合成期の細胞集団が増加し、細胞数も増加していた。一方、EGF反応性CPCはカルジオトロフィン-1 (CT-1) によってアストロサイトへの分化が促進されることが知られている。そこで、CPCをEGFとCT-1の存在下で培養することによって、necdinのアストロサイト分化に及ぼす影響を調べたところ、Ndn KOマウス由来のCPCでは、アストロサイトのマーカーであるGFAPを発現する細胞が有意に増加した。以上の結果、necdinは活性化されたEGFRと結合してRAS/ERK経路を負に制御することによって、CPCの増殖とアストロサイトへの分化を抑制することが示された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (藤 本 泉)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 吉川 和明
	副 査	教 授 岡田 雅人
	副 査	教 授 関口 清俊

論文審査の結果の要旨

哺乳類細胞の成長因子として最初に発見された上皮成長因子 (EGF) は、神経系の初期発生過程において神経幹細胞の増殖と分化に主要な働きをすることが知られている。一方、EGF の受容体である上皮成長因子受容体 (EGFR) は、EGF によって活性化される受容体型チロシンキナーゼとして、細胞増殖や分化に関わる細胞内シグナル伝達を担う重要な細胞膜受容体である。しかし、神経幹細胞における EGFR シグナルの制御機構については未だ不明な点が多い。

本論文は哺乳類のニューロンの生存を促進する多機能性タンパク質である *necdin* が、大脳皮質における神経幹細胞である大脳皮質前駆細胞における EGFR シグナル伝達系を制御する内在性因子であることを明らかにしたものである。*Necdin* は活性型 EGFR のチロシンキナーゼ領域に直接結合して EGFR から RAS/ERK 経路へのシグナル伝達を抑制するため、*necdin* 遺伝子欠失変異マウス胎仔から調製した大脳皮質前駆細胞では EGFR 下流の RAS/ERK 経路が活性化していることが見出された。このことから、*necdin* は大脳皮質前駆細胞において EGFR/RAS/ERK 経路によるシグナル伝達を負に制御することが明らかになった。また、大脳皮質前駆細胞への遺伝子導入法を用いた実験によって、EGFR/RAS/ERK 経路が活性化されるとグリア細胞 (アストロサイト) への分化と増殖が促進されること、および、*necdin* がこの経路を抑制することによってグリア細胞の増殖を抑制することが明らかになった。さらに、*necdin* は、EGFR 変異体やガン特異的遺伝子を導入した大脳皮質前駆細胞の EGFR/RAS/ERK 経路の活性化を防ぐことによって、悪性形質転換による神経膠腫 (グリオーマ) の発生を抑制することが示唆された。

以上のように、本論文は、EGFR を介した大脳皮質前駆細胞の増殖と分化が *necdin* によって制御されていることを明らかにしたものであり、哺乳類における脳神経系細胞の発生分化機構の解明に大きく貢献するものと考えられる。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。