

Title	Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. (ネトリン受容体の同定 - DCC(Deleted in Colorectal Cancer)のネトリン受容体としての機能-)
Author(s)	梶, 和子
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3129331
DOI	10.11501/3129331
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	ます 榎 かず 和 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 3 3 0 0 号
学位授与年月日	平成 9 年 5 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. ネトリン受容体の同定 —DCC (Deleted in Colorectal Cancer) のネトリン受容体としての機能—
論文審査委員	(主査) 教授 村上富士夫 (副査) 教授 葛西 道生 教授 木村 實 助教授 山本 亘彦

論 文 内 容 の 要 旨

神経系機能の基礎となる神経回路網の形成は、発生期の神経軸索が正しい経路を選択的に伸長することにより始まる。ネトリンは、発生期の脊髄交連神経の軸索をガイドする拡散性の誘引物質として同定されたが、その構造と機能は、脊椎動物のみならずショウジョウバエ、線虫 (*C. elegans*) でもよく保存されている。しかしながら、ネトリンの受容体機構については明らかではなかった。

そこで今回、遺伝学的解析からネトリンの情報伝達に関わるとされながら機能が不明であった線虫の *unc-40* 遺伝子の脊椎動物のホモログを新たにラットから単離し、解析した。それらは、ヒト大腸癌の進展に関わる腫瘍抑制遺伝子の候補として同定された *DCC* (*Deleted in Colorectal Cancer*) と、ニワトリ胚の脳で軸索伸長期に発現する蛋白として同定された *neogenin* である。両者は共に免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する膜蛋白をコードし、発生期の神経系に発現している事は知られていたが、神経系での働きは不明であった。

これらの遺伝子の役割を調べる為にまずそれぞれの遺伝子の発現部位を調べた。交連神経が分化し軸索を伸ばす時期の交連神経細胞に *DCC* は多量に発現していたが、*neogenin* の発現はなかった。*DCC* 蛋白は、免疫組織化学により、交連神経の軸索と成長円錐に発現が認められた。さらに、ネトリンは *DCC* を発現させた細胞に特異的に結合し、その解離定数は 10 nM のオーダーであった。従って *DCC* はネトリン受容体であるために必要な時期に必要な場所に発現し、ネトリンを結合できる事がわかった。そこで次に、*DCC* の機能がネトリンに対する反応に必要な否かを調べるために、脊髄背側部片の培養系を用いた実験を行った。*DCC* の細胞外領域に対するモノクローナル抗体は、ネトリンに依存する脊髄背側部片からの交連神経軸索の伸長を、濃度依存性に特異的に抑制した。以上の結果から、*DCC* はネトリンの受容体 (少なくとも受容体機構の主要部分) であると考えられた。

次に、*DCC* の生体内での機能を調べるために *Dcc* ノックアウトマウスの解析をした。ホモ接合体の脊髄では、ニューロフィラメント、交連神経のマーカーである TAG-1 に対する免疫染色、DiI を用いたトレーシングのいずれによっても、交連神経線維の走行に特異的に異常が観察された。さらに、前脳では脳梁・前交連・海馬交連の形成不全や橋核の無形成等の異常も認められた。これらはネトリン 1 ノックアウトマウスで認められた異常と極めてよく似てい

た。*Dcc* 欠損マウスとネトリン1欠損マウスの表現型が一致することと *in vitro* での DCC 機能の解析結果から、DCC が生体内でも実際にネトリン受容体として、神経回路形成に重要な働きをしているものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

脳における神経回路形成の分子機構の解明は脳科学における最も重要な課題の一つである。神経回路網の形成は発生期の神経軸索が正しい経路を選択的に伸長することにより始まる。ネトリンは、発生期の脊髄交連神経の軸索をガイドする拡散性の誘引物質として同定された物質であるが、その構造と機能は、脊椎動物のみならずショウジョウバエ、線虫 (*C. elegans*) でもよく保存されている。しかしながら、ネトリンの受容体機構については明らかではなかった。

本論文では、遺伝学的解析からネトリンの情報伝達に関わるとされながら機能が不明であった線虫の *unc-40* 遺伝子の脊椎動物のホモログを新たにラットから単離し、解析したものである。それらは、ヒト大腸癌の進展に関わる腫瘍抑制遺伝子の候補として同定された DCC (Deleted in Colorectal Cancer) と、ニワトリ胚の脳で軸索伸長期に発現する蛋白として同定された *neogenin* である。両者は共に免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する膜蛋白をコードし、発生期の神経系に発現している事は知られていたが、神経系での働きは不明であった。本研究ではこれらの遺伝子とくに DCC の発現部位の解析、DCC 分子のネトリンとの結合性、抗体による機能阻害実験などをおこなうことによって、DCC はネトリンの受容体であることを明らかにした。

また、DCC の生体内での機能を調べるために *Dcc* ノックアウトマウスを作成して解析をおこない、DCC が生体内でも実際にネトリン受容体として、神経回路形成に重要な働きをしている事を明らかにした。

以上のように、本研究は神経系機能の基礎となる神経回路網の形成の分子機構の解明に極めて重要な寄与をしたものであり、博士論文として十分に価値あるものと認める。