

Title	EGF-signaling mediated by Gab1 is required for the spatiotemporally regulated proliferation of Olig2-expressing progenitors in the embryonic spinal cord
Sub Title	胎生期脊髄における時間空間的に制御されたOlig2陽性神経系前駆細胞の増殖には、Gab1を介したEGFシグナルが必須である。
Author	矢野, 佳芳
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.4 (2007. 12) ,p.6-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0006

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

EGF-signaling Mediated by Gab1 Is Required for the Spatiotemporally Regulated Proliferation of Olig2-expressing Progenitors in the Embryonic Spinal Cord

(胎生期脊髄における時間空間的に制御されたOlig2陽性神経系前駆細胞の増殖には、
Gab1を介したEGFシグナルが必須である。)

矢野 佳芳

内容の要旨

Gab1 (Grb2 associated binder1) は、神経幹 (前駆) 細胞などの増殖因子であるEGFやFGFなど様々な増殖因子の下流で働くアダプター分子である。本論文では、遺伝子欠損動物を用いて組織学的、細胞生物学および生化学的解析を行ない、Gab1を介したシグナルが胎生期脊髄の発生、特に時間空間的に制御された特定の神経系前駆細胞の増殖にどのように寄与するのか、またそのシグナル伝達の分子機構を明らかにすることを試みた。

胎生期マウスの脊髄においては、pMNドメインに存在するbHLH型転写因子であるOlig2を発現する前駆細胞から、胎生11日までは運動ニューロンが、胎生12日以降オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) が、順次産生される。初めに、1) Gab1欠損マウスの組織学的解析を行なった所、胎生12日以降腹側脊髄において、Olig2陽性細胞の特異的な減少と、脳室帯における細胞増殖の低下が見られた。従って、Gab1はOlig2陽性細胞の増殖に必須であると考えられた。そこで、どのような増殖因子がGab1を介してOlig2陽性細胞の増殖に関与するのか、マウス脊髄の培養系で様々な増殖因子の効果を検討した。その結果、2) EGF存在下でOlig2陽性細胞の特異的な増殖が認められ、Gab1欠損マウスでは、このEGF依存性のOlig2陽性細胞の増殖が見られなかった。よって、Gab1はEGFによるOlig2陽性細胞の増殖刺激を仲介していると考えられた。さらに、3) EGF受容体 (EGFR) の胎生期脊髄における発現を解析したところ、胎生12日以降Olig2陽性であるpMNドメインに限局した発現が確認された。

また、胎生14日以降では、背側においても、paired homeodomain型転写因子であるPax7陽性細胞からOlig2陽性細胞が出現しOPCが産生される。そこで、4) 胎生14日においても同様の解析を行った結果、Gab1は胎生12日腹側脊髄と同様に、胎生14日背側のOlig2陽性細胞の増殖にも必須であり、EGFによる増殖刺激を仲介していることがわかった。また、5) EGFR欠損マウスを解析したところ、Gab1欠損マウスの表現型と酷似していたことから、Gab1欠損マウスにおける異常は、主にEGFシグナルの伝達障害である事が確認された。最後に、6) EGF刺激によって活性化される細胞内情報伝達分子の解析および活性化型Akt1レンチウィルスの導入によるGab1機能のレスキュー実験により、EGFによるGab1を介したOlig2陽性細胞の増殖刺激は、胎生12日の脊髄ではAkt依存性、胎生14日の背側脊髄ではAkt非依存性であることを明らかにした。

以上により、胎生期脊髄のOlig2陽性細胞の時間空間的に制御された増殖には、Gab1-Aktを介したEGFシグナルが大きく関与していることが明らかとなった。

論文審査の要旨

Grb2-associated binder 1 (Gab1) は、神経幹 (前駆) 細胞の増殖因子であるEGFなど様々な増殖因子の下流で働くアダプター分子である。本論文では、遺伝子欠損動物を用いて胎生期脊髄の発生におけるGab1を介したシグナルの役割を解明することを試みた。

Gab1欠損マウスの解析により、胎生12日ではpMNドメインに存在するOlig2陽性細胞の減少と、脳室帯における細胞増殖の低下が見られた。マウス脊髄の培養を行い、野生型ではEGFによりOlig2陽性細胞の増殖が見られるが、Gab1欠損マウスでは増殖が低下していた。よって、Gab1はEGFによるOlig2陽性細胞の増殖刺激を仲介していると考えられた。胎生14日以降では、背側においてもPax7陽性のドメインからOlig2陽性細胞が出現するが、胎生14日背側でもGab1を介したEGFシグナルがOlig2陽性細胞の増殖に寄与していることがわかった。さらに、Gab1の下流に存在する分子の活性化の解析および活性化型Akt1ウィルスの導入によるGab1機能のレスキューを試みた実験の結果により、EGFによるGab1を介したOlig2陽性細胞の増殖刺激は、胎生12日ではAkt1が必要十分であるが、胎生14日の背側脊髄ではAkt1以外の分子が寄与している可能性が考えられた。以上により、時間空間的に制御されたOlig2陽性細胞の増殖には、Gab1を介したEGFシグナルが関与していることが示された。

審査では、Gab1は前駆細胞の増殖に関与しているようであるが、細胞死によりGab1欠損マウスで前駆細胞の数が減少しているのではないかと質問がなされた。これに対して、TUNEL法によりアポトーシスを起こしている細胞数を検討したが、アポトーシスの亢進は見られなかったと回答した。また、背側の脳室帯でも増殖細胞の減少が見られるがここでの表現型はどのように解釈するかとの質問がなされた。これに対し、文献的には神経幹細胞の増殖因子であるFGF2の下流で、アダプター分子であるFRS2が主に機能していることがわかっている。また、Gab1欠損マウスではFGF2刺激後のERKのリン酸化は影響を受けていないことから、FRS2など他のアダプター分子によりそのシグナルが保たれている可能性もあると回答した。さらに、内在性リガンドはTGF- α であるかとの質問がなされ、EGFの発現は解析をしていないが、同じくEGF受容体のリガンドであるTGF- α が胎生期の脊髄では運動ニューロンに発現していることが報告されており、生体内のリガンドである可能性もあると回答した。

以上、本研究では今後さらに検討すべき点はあるものの、時期および部位において制御された特定の神経系前駆細胞の増殖に、Gab1を介したEGFシグナルが寄与していることが明らかにされた。従って、正常発生および病態における特定の神経系前駆細胞の増殖シグナルの解明につながる期待され、神経発生学のみならず神経疾患の診断および治療に繋がる基礎的な研究としても有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 生理学 岡野 栄之
解剖学 仲嶋 一範 内科学 鈴木 則宏
生理学 袖崎 通介
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 仲嶋 一範

試問日: 平成19年6月7日