

論文の内容の要旨

論文題目 A critical role of ADAMTS4 in mouse early development

和訳 マウス初期発生における ADAMTS4 の重要な役割

指導教官 永井 良三

東京大学医学系研究科

平成 11 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 王宇慧

ADAM (a disintegrin and metalloproteinase)ファミリーはメタロプロテアーゼとディスインテグリンドメインを有する受精や細胞分化、サイトカインの活性化など広汎な生理機能に関わる蛋白として最近注目されている。ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type I motifs) ファミリーは ADAM ファミリーと異なっていて、トロンボスポンジンモチーフを有し細胞外基質に結合する分泌型蛋白としての特徴を有する新しいメタロプロテアーゼである。ADAMTS1 は悪液質誘導性マウス大腸癌から単離され、細胞外マトリックスの代謝に関わることによって、腎臓などの器官形成や細胞構築の維持に重要な役割を果たしていることが認められた。現在までに ADAMTS1 をはじめ 14 の ADAMTS メタロプロテアーゼが同定され、大きなファミリーを形成し、ヒト疾患との関連が次々明らかになった。ADAMTS2 の変異が Ehlers-Danlos syndrome type VIIC の原因で ADAMTS4 及び ADAMTS5 が慢性関節炎軟骨の破壊に関与していること、さらに ADAMTS13 の変異が血栓性血小板減少性紫斑病の原因であることが報告された。ADAMTS4 (Aggrecanase-1) は慢性関節炎患者の関節液で発見された新しい蛋白

であり、関節軟骨の破壊に関与する機能が認められている。さらに脳に存在する brevican や血管に存在する versican など細胞外基質を構成するプロテオグリカンを分解することが報告されている。

本研究において、私は ADAMTS4 の生理学的意義を明らかにするため遺伝子欠損マウスを作成し解析を行った。ADAMTS4 のヘテロ接合体は外見でも異常がなく生殖も正常だったが、ヘテロ同士を交配し Southern-blot で解析した結果 187 匹の子供のうちにホモ接合体が観られなかった。ホモ接合体の致死時期を各妊娠段階で調べた結果、妊娠 8.5 日目の段階でも胚子の存在がなく、子宮には吸収された残留物もないことが分かった。私は最終的に I-PEP-PCR の技術で 8 細胞期や 2 細胞期でホモ接合体を見つけることができた。しかし、胚子の形態が異常で未分裂や断片化を呈していた。さらに受精に関わる他の細胞も調べてみると ADAMTS4 が受精卵と続発する発生段階の胚子に特異的に発現していることが分かった。さらに受精卵で ADAMTS4 発現の局在を蛍光免疫染色で明らかにした。In vitro の実験系では受精卵の分裂が抗 ADAMTS4 抗体によって用量依存的に阻害され、発育阻害された卵子は未分裂や断片化を呈し、形態上は ADAMTS4 ホモ接合体の表現と一致していることが分かった。

ADAM ファミリーメンバーの fertilin α , β や cyritestin が受精に関与していることがよく知られているが糖鎖のある細胞外基質を構成するプロテオグリカンを分解する蛋白質としての ADAMTS4 が発生の初期段階で決定的な役割を果たしていることが私の研究で初めて明らかになった。ADAMTS4 が初期発生段階に関与する詳細なメカニズムとヒトの不妊症との関連がこれからの研究で解明されることが期待される