

## 論文の内容の要旨

論文題目 神経幹細胞/前駆細胞におけるドッキングタンパク質 FRS2 $\alpha$  の機能  
解析

指導教員 後藤 典子 特任准教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 18 年 4 月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 佐藤 琢也

Fibroblast growth factor (FGF) は神経幹細胞を含む様々な幹細胞の培養系において幹細胞の自己複製能及び増殖能を維持させるために一般的に使用されている増殖因子である。しかし、FGF がどのような分子機構によってそのような作用を示すのかについてはまだよく分かっていない。そこで本研究では FGF シグナリングにおいて重要な機能を果たす分子である FGF receptor substrate 2  $\alpha$  (FRS2 $\alpha$ ) に注目し、神経幹細胞/前駆細胞の自己複製および増殖における機能解析を行った。FGF の結合により FGF 受容体が活性化すると、FRS2 $\alpha$  の Shp2 結合部位と Grb2 結合部位として知られる 2 つのチロシンリン酸化部位がリン酸化され、Erk の活性化が起こることが知られている。まず、FRS2 $\alpha$  の過剰発現の実験から、FRS2 $\alpha$  のチロシンリン酸化が神経幹細胞/前駆細胞の増殖および自

己複製に必要であることが示唆された。次に、FRS2 $\alpha$  の Grb 2 結合部位の変異体 (Frs2 $\alpha^{4F}$ ) を使った解析から、この部位は神経前駆細胞の増殖に必要であるが、幹細胞の自己複製には必須ではないことが示された。加えて、Frs2 $\alpha^{4F/4F}$  の神経幹細胞／前駆細胞においては FGF 刺激による Erk の活性化が若干減少していた。さらに、神経幹細胞／前駆細胞において Frs2 $\alpha$  をノックダウンした場合には FGF 刺激に応じた Erk の活性化が減少し、増殖および自己複製の両方が阻害された。これらの結果は、FGF 刺激による FRS2 $\alpha$  を介した比較的低いレベルの Erk の活性化は自己複製の促進に十分であるが、神経前駆細胞が正常に増殖するには、より高いレベルの Erk の活性化が必要であることを示唆する。この仮説と一致して、Mek 阻害剤を使った実験から、高い阻害剤の濃度では神経幹細胞／前駆細胞の増殖および自己複製の両方が阻害されるが、低い濃度では増殖だけが抑制され自己複製には影響がないことが示された。一方、FGF-FRS2 $\alpha$  シグナリングの下流で自己複製に働く因子について探索した結果、転写因子 Hes1 の発現が Erk の活性化に依存して誘導されることが分かった。また、Frs2 $\alpha$  をノックダウンすると神経幹細胞の自己複製が阻害されたが、Hes1 を共発現することでその表現型がレスキューされた。以上の結果から、FRS2 $\alpha$  は FGF による Erk の活性化レベルを調節することで、神経幹細胞／前駆細胞の自己複製及び増殖の制御に重要な働きをすることが示された。また、FRS2 $\alpha$ -Erk シグナリングの下流で Hes1 が神経幹細胞の自己複製に働いていることが分かった。