

# 学位論文抄録

**Analysis of Tsukushi (TSK) function in the central nervous system**  
(中枢神経系における Tsukushi (TSK) 分子の機能解析)

伊 藤 綾 子

熊本大学大学院医学教育部博士課程生体医科学専攻神経分化学

指導教員

田中 英明 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻神経分化学分野

## 学位論文抄録

### [ 目的 ]

Tsukushi (TSK) はニワトリ胚レンズから単離された Small leucine-rich repeat proteoglycan family に属する分泌型のタンパクである。TSK は発生に重要なシグナル因子 BMP, Notch, FGF を調節することにより、正常な形態形成に関与することが明らかとなっている。そこで、脊椎動物 (ニワトリ胚・マウス) での発現分布を解析し、中枢神経系での TSK の機能を明らかにすることを目的とした。

### [ 方法 ]

TSK の発現を *in situ* hybridization 法、遺伝子導入マウスでの Lac-Z 染色法により解析した。TSK 発現部位近郊に発現する細胞外分泌因子との相互作用を検討するために、免疫沈降法を行った。ニワトリ胚を用いた *in vivo*, *in vitro* における TSK の過剰発現実験では、エレクトロポレーション法を行った。さらに、内在性の TSK の役割を調べるために TSK-KO マウスを作成し、表現型を解析した。

### [ 結果 ]

TSK は発生期から成体に至まで、神経幹細胞の局在する眼の毛様体と脳室下帯で強く発現することを見いだした。網膜幹細胞/前駆細胞が局在する毛様体 (ニワトリでは網膜周辺部) において、TSK は新たに Wnt の受容体である Frizzled-4 に結合することで Wnt 阻害活性を持ち、網膜幹細胞/前駆細胞の増殖を調節することが明らかとなった。エレクトロポレーション法を用いた TSK の過剰発現実験では *in vivo* と *in vitro* の両方で TSK が Wnt シグナルを抑制する結果が得られた。

TSK-KO マウスを用いた内在性の TSK の機能解析では、TSK の機能を抑制することにより、神経幹細胞の局在する眼では毛様体、脳では脳室下帯の拡大と神経幹細胞/前駆細胞増殖の活性化が認められた。

さらに、TSK-KO マウスの脳の表現型解析から TSK の欠損により左右の脳を結ぶ前交連神経回路形成の異常が観察された。

### [ 考察 ]

今までに中枢神経系の幹細胞/前駆細胞の増殖活性に Wnt シグナルが関与する事が報告されていた。TSK は眼と脳において神経幹細胞/前駆細胞の領域で発現し、Wnt の受容体の Frizzled-4 に結合する。以上の結果から、TSK は神経幹細胞/前駆細胞の増殖活性を調節し、それらを未分化性に維持するニッチ分子としての役割をする可能性が示唆された。

また、TSK-KO マウスの脳の表現型解析から、TSK は前交連神経の細胞体とその近傍に発現し、様々なガイダンス分子との相互作用を行っている可能性があると考えられる。

### [ 結論 ]

TSK は中枢神経系の神経幹細胞において Wnt シグナルを阻害することにより、幹細胞の増殖抑制に関与する。また、前交連神経の表現型解析の結果から、TSK は脳の神経回路網の形成にも関与することが明らかとなった。