

岐阜大学大学院医学系研究科 青木仁美講師、原明教授、國貞隆弘教授

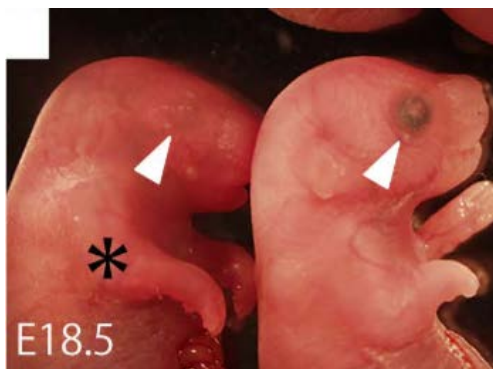
## 世界で初めて 受容体型チロシンキナーゼ Kit の 脳形成における重要な役割を発見

米国臨床研究学会「JCI insight」に論文が掲載

受容体型チロシンキナーゼ Kit (キット) は、細胞外からのシグナルを細胞内に伝達し、細胞の様々な性質を調整するリン酸化酵素の1つとして知られています。Kitには組織・器官の発生や再生に必要な幹細胞の増殖・分化に重要な役割があることが分かっています。Kitの機能が失われると、白斑症などの色素異常、重篤な便秘、貧血、不妊を引き起こし、逆にKitの機能が過剰になると、がんの原因になることが知られています。ところが、これまではKitが最も多量に発現する脳において、どのような役割を果たすのかが明らかにされていませんでした。このたび、岐阜大学大学院医学系研究科の青木仁美講師、原明教授、國貞隆弘教授は、Kitが脳の形成に重要な役割を果たすことを世界で初めて発見しました。この研究論文が米国臨床研究学会「JCI insight」に2017年10月5日に掲載されました。

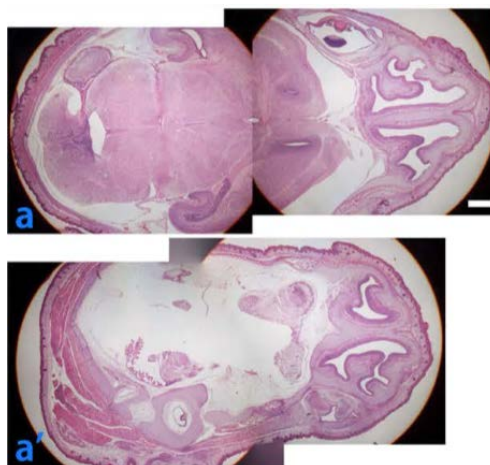
本研究では発生初期(胚生8.5日前後)の脳神経領域に限りKit遺伝子の機能を失わせる変異を誘導する遺伝子操作マウス(以下、「条件付きKit変異マウス」という)の成育を確認したところ、例外なく脳の成長が進まず(図2)、脊髄(図3)や目(図1)も正常なマウスに比べて非常に小さく、胎児期にすべて死亡しました。さらに、これらのマウスの神経幹細胞を調べると、その増殖に異常があることが分かりました(図4)。この結果から、Kitのシグナルは脳の発生および形成に重要な役割を果たしていることが、世界で初めて明らかになりました。

図1 胚生18.5日のマウス



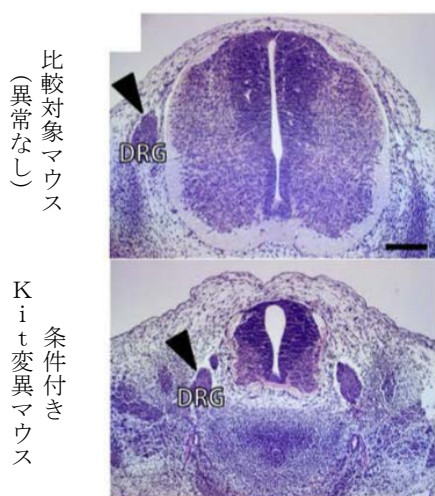
右の異常がないマウスは目が成長しているが、左の条件付き Kit 変異マウスは目が成長していない。

図2 胚生15.5日のマウスの頭部断面(右が鼻)



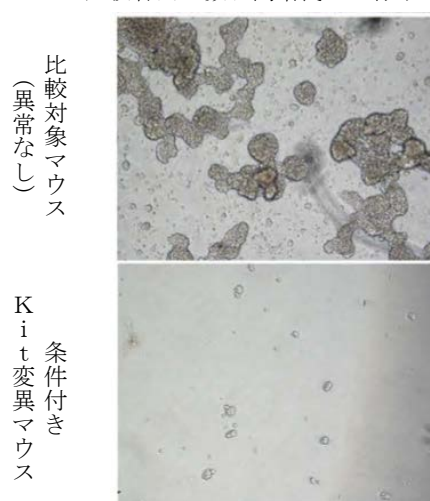
上の異常がないマウスは脳が成長しているが、下の条件付き Kit 変異マウスは脳が空洞。両方とも脳神経細胞とは無関係の鼻腔は確認できる。

図3 胚生 12.5 日のマウスの脊髄



異常がないマウスは脊髄が成長しているが、  
条件付き Kit 変異マウスの脊髄は極めて小さい。

図4 胚生 13.5 日のマウスの脳神経幹細胞を  
試験管内で数日間培養した様子



異常がないマウスの神経細胞は成長して塊を  
形成しているが、条件付き Kit 変異マウスの  
神経細胞は増殖せずに死んでしまう。

### ●本研究における発見：Kit は脳の発生および形成に重要な役割がある

これまでに、受精卵の段階で既に Kit の機能を失っている突然変異マウス（以下、「Kit 変異マウス」という）には、色素細胞や血液細胞に異常が生じ、白斑や貧血などの症状が現れますが、脳神経には異常が見られませんでした。そのため、Kit が脳に与える役割が不明で、Kit が脳に多量に発現する理由が謎に包まれていました。

本研究は、条件付き Kit 変異マウスでは、脳の成長が進まないことを示し、Kit のシグナルが脳の発生および形成に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。

なお、条件付き Kit 変異マウスの症状は、両親に依頼する 2 個の Kit 遺伝子のうち 1 個が変異しただけで現れます。つまり、この変異は優性（顕性）遺伝し、Kit シグナルが半分になるだけで脳神経細胞が死んでしまうことを示しています。

### ●条件付き Kit 変異マウスの樹立方法

条件付き Kit 変異マウスは、片親由来の Kit 遺伝子の機能発現に重要な部分を、脳神経領域に限定的に、脳の形成が始まる胚生 8.5 日前後にノックアウトさせることで樹立しました。Kit 遺伝子の機能発現に重要な部分のノックアウトは Cre-loxP システム※により行いました。ノックアウトを脳神経に限定的に引き起こすために、Cre（遺伝子組み換え酵素）を Sox1 遺伝子（脳神経に特異的に発現する、DNA の遺伝情報を RNA に転写する過程を促進する転写因子）の転写調節配列と連結しました。すると、脳神経だけで発現した Cre が、脳の形成が始まる胚生 8.5 日前後に発現し、Kit 遺伝子がノックアウトされます。

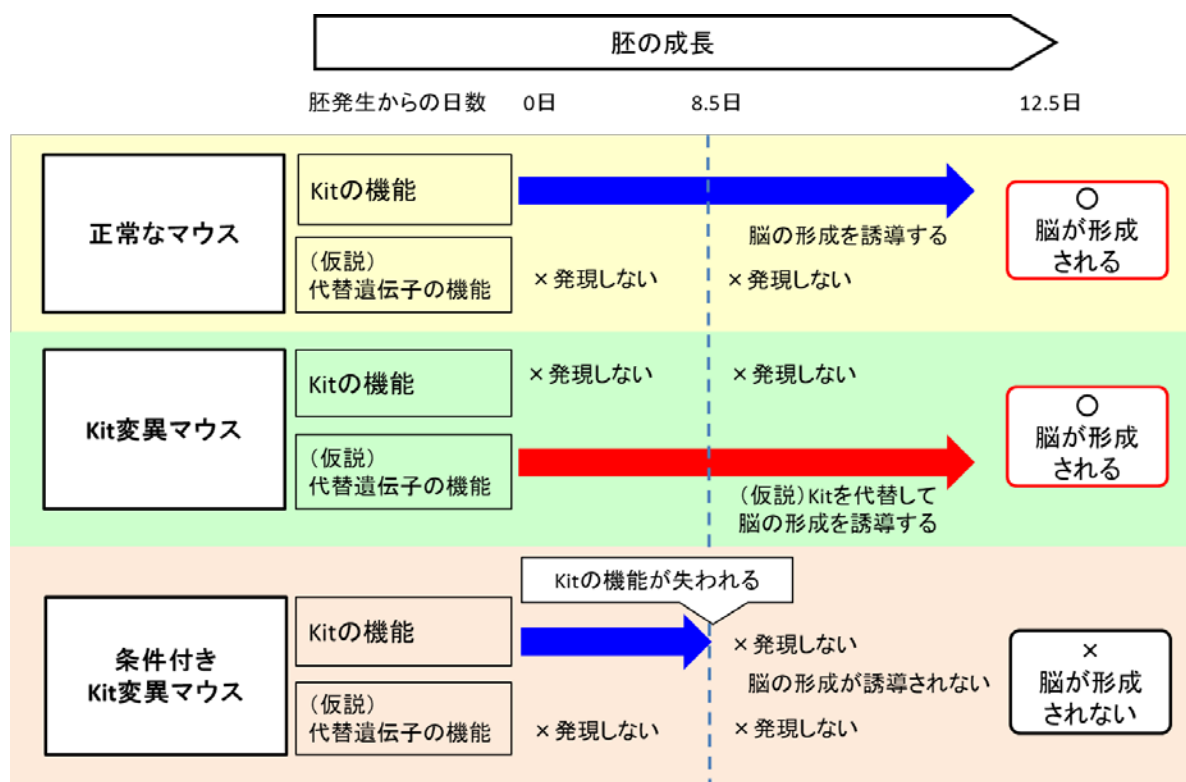
※ Cre-loxP システム: loxP は Cre が認識する 34 塩基からなる DNA 配列。Cre は遺伝子組み換え酵素。遺伝子の中で切り離したい箇所の開始点と終了点にそれぞれ loxP 配列を挿入すると、Cre は 2 つの loxP を認識し、その間の遺伝子を切り出して破壊する。

●なぜ受精卵段階で Kit が変異していたマウスは脳に異常がないか

受精卵段階で Kit が変異していた Kit 変異マウスは、なぜ脳に異常が見られないのでしょうか。本研究はそのことを分子レベルで説明するまでには至っていませんが、仮説としては、受精卵（きわめて初期の胚）の段階で Kit に異常があると、Kit の機能を代替する遺伝子が代わりに発現することで、脳の成長が誘導されると考えられます。なお、代替遺伝子は色素細胞や血液細胞では発現が少なく、Kit の異常をカバーしきれずに白斑や貧血などの症状が現れると考えられます。

条件付き Kit 変異マウスの場合は、受精後 8.5 日前後までは Kit の機能が正常だったにも関わらず、突然 Kit の機能が失われるため、Kit のシグナルに依存していた神経幹細胞が増殖せず死んでしまうと考えられます（図 5）。

図 5 正常なマウス、Kit 変異マウス、条件付き Kit 変異マウスの脳形成の成否



●本研究が示唆すること：遺伝子の未知の機能の発見

Kit 以外にも、発現が認められるのに機能が明らかではない遺伝子は数多く存在します。マウスの全遺伝子の 2/3 は機能を失わせても異常が観察されなかった、という報告もあります。本研究結果から類推すると、これらの遺伝子は必要ないのではなく、実際にはどこかの組織・器官で使われており、受精卵の段階でこれらの遺伝子の機能を失わせた場合は、別の代替遺伝子が発現するため、異常が観察されないと考えられます。今後、この予想を他の遺伝子でも確認することで、数多くの遺伝子に関して今まで明らかにされていない新しい機能が発見されることが期待されます。

### 【論文情報】

タイトル: Induced haploinsufficiency of *Kit* receptor tyrosine kinase impairs brain development

論文著者: 青木仁美 1 (筆頭著者)、原明 2、國貞隆弘 1 (論文責任者)

1 岐阜大学大学院医学系研究科 組織・器官形成分野

2 岐阜大学大学院医学系研究科 腫瘍病理学分野

掲載雑誌: *JCI insight*, DOI: 10.1172/jci.insight.94385

論文公開 URL: <https://insight.jci.org/articles/view/94385>

### 【研究者プロフィール】

青木 仁美 (AOKI, Hitomi) プロフィール

岐阜大学大学院医学系研究科 組織・器官形成分野 講師

<略歴>

2003年 岐阜大学農学部生物資源生産学科卒業

2005年 岐阜大学大学院医学研究科再生医科学専攻博士前期課程修了

2007年 日本学術振興会特別研究員

2008年 岐阜大学大学院医学研究科再生医科学専攻博士前期課程修了  
(博士(再生医科学)、岐阜大学)

2009年 岐阜大学大学院医学研究科再生医科学専攻 助教

2013年 岐阜大学大学院医学研究科再生医科学専攻 講師



原 明 (HARA, Akira) プロフィール

岐阜大学大学院医学系研究科 腫瘍病理学分野 教授

医学博士、病理専門医、細胞診専門医、再生医療認定医

<略歴>

1986年 岐阜大学医学部医学科卒業

1986年 岐阜大学医学部附属病院研修医(脳神経外科)

1992年 岐阜大学大学院医学研究科博士課程修了

1992年 岐阜大学医学部助手(脳神経外科)

1995年 岐阜大学医学部助手(第一病理学)

2000年 WHO国際がん研究機関客員研究員(Molecular Pathology)

2001年 岐阜大学医学部助教授(第一病理学)

2004年 岐阜大学大学院医学系研究科助教授(腫瘍病理学)

2008年 岐阜大学大学院医学系研究科教授(腫瘍病理学)

2012年 岐阜大学大学院医学系研究科 副研究科長・副学部長



國貞 隆弘 (KUNISADA, Takahiro) プロフィール  
岐阜大学大学院医学系研究科 組織・器官形成分野 教授  
<略歴>



1980年 京都大学理学部卒  
1985年 京都大学大学院理学研究科博士課程単位取得退学  
1985年 理学博士 (京都大学)  
1985年 京都大学研修員 (日本学術振興会奨励研究員)  
1986年 米国国立衛生研究所 (NIH, NIA) 客員研究員  
1988年 熊本大学医学部講師  
1993年 京都大学医学部講師  
1995年 鳥取大学医学部助教授  
2001年 岐阜大学医学部教授

※本リリースは文部科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、本町記者会、科学記者会  
および各社科学担当に送信しております。

**【本件に関する問い合わせ先】**

・岐阜大学 総務課広報室 担当：佐藤、伊藤

Tel : 058-293-3377 / 2009 Fax : 058-293-2021 E-mail : kohositu@gifu-u.ac.jp