

組織形成と領域化におけるephrin/Eph Receptorの役割

メタデータ	言語: jpn 出版者: 明治大学農学部 公開日: 2015-04-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 吉田, 彩舟, 加藤, たか子, 加藤, 幸雄 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10291/17146

〔総 説〕

組織形成と領域化における ephrin/Eph Receptor の役割

吉田 彩舟^{1*)}・加藤たか子^{2,3)}・加藤 幸雄^{1,3,4)}

(2014年3月23日受理)

The molecular mechanisms of ephrin/Eph Receptor signaling in tissue organogenesis and boundary formation

Saishu YOSHIDA, Takako KATO and Yukio KATO

Abstract

Ephrin and its receptor (Eph Receptor) are signal molecules localized on the cell membrane and have a unique juxtacrine signaling mechanism which is activated by cell adhesion. Recent studies have revealed that ephrin/Eph Receptor signaling plays a role in cell locomotion and boundary formation in many tissues. In this paper, we review recent studies on the molecular mechanisms of ephrin/Eph Receptor signaling from the viewpoint of tissue organogenesis including the pituitary development.

要 旨 ephrin とその受容体 (Eph Receptor) はどちらも細胞膜上に存在するシグナル分子であり、そのシグナル伝達様式は細胞間接着を介するという特徴を有する。近年、この ephrin/Eph Receptor シグナリングが組織形成過程における細胞移動や領域の決定に重要な役割を担う事が明らかになりつつある。本総説では、組織形成における ephrin/Eph Receptor の研究結果を概説するとともに、下垂体の形成における最近の知見も合わせて紹介する。

1. はじめに

ephrin ならびにその受容体 (Eph Receptor) は、どちらも細胞膜上に存在するシグナル伝達分子であり、受容体を発現する細胞と、リガンドを発現する細胞同士の接着を介して、シグナルが伝達されるという特徴を有する分子である。また、その特徴から、リガ

ンド発現細胞から受容体発現細胞への一方向のシグナリングだけでなく、受容体発現細胞からリガンド発現細胞への双方向性のシグナリングを引き起こすユニークなシグナル伝達分子である。このような特徴は、発生過程におこる細胞同士の反発や誘導を含めた細胞移動、さらには特定の細胞集団からなる領域形成に非常に適しており、後脳領域の発生で見られるロンボメアや、軸索を含めた中枢神経系、血管系、腸管上皮細胞、癌組織など、多くの組織形成における、ephrin/Eph Receptor シグナリングの重要性が明らかになりつつある。

我々はこれまで、脳の直下に位置する内分泌器官である下垂体に着目し、組織の発生や分化機序に関する研究を進めてきた (諏佐 *et al.* 2007)。下垂体は口腔

¹⁾ 明治大学大学院農学研究科 214-8571 神奈川県川崎市東三田 1-1-1

²⁾ 明治大学研究知財戦略機構 214-8571 神奈川県川崎市東三田 1-1-1

³⁾ 明治大学生殖内分泌研究所 214-8571 神奈川県川崎市東三田 1-1-1

⁴⁾ 明治大学農学部 214-8571 神奈川県川崎市東三田 1-1-1

* E-mail: saishu@hotmail.co.jp; TEL: 044-934-7035; Fax: 044-934-7035

上皮に由来する前葉・中葉（腺下垂体）と、神経外胚葉由来の後葉（神経下垂体）の3葉からなる。特に同一起源である前葉と中葉にはそれぞれ、幹・前駆細胞が存在し、前葉には5種類のホルモン産生細胞と血管系の細胞が、中葉には1種類のホルモン産生細胞が存在している。こうした、前葉と中葉といった組織的な領域、さらにそれらを構成する細胞群の領域化には、成長因子の影響に加え、特定の細胞が特定の領域へ移動し、定着する機序が存在すると考えられる。このように、複雑に構成される下垂体の発生や分化、領域化を研究する上で、*ephrin*/*Eph* Receptor シグナリングを解析する事は、下垂体形成機序の解明だけでなく、恒常性を維持するための細胞供給機構を解明する一助になると考えられる。本稿では、*ephrin*/*Eph* Receptor シグナリングと組織の領域化に関して、下垂体を含めた種々の組織発生における役割に関して概説する。

2. *ephrin* とその受容体 (*Eph* Receptor) の構造と対合性

Eph Receptor (以下, *Eph*) は膜貫通受容体型チロシンキナーゼファミリー (RTKs) に属し、*Erythropoietin-producing hepatocellular carcinoma* に発現する RTK をスクリーニングする過程で同定された分子である。一方で、*Eph* に結合する種々のリガンド分子が発見され、それらは *Eph family receptor interacting proteins* として、1997年に *ephrin* という名称に統一された (*Eph Nomenclature Committee* 1997; Zhou 1998)。

Eph はそのアミノ酸配列およびリガンドとの親和性により、大きくサブクラス A (*EphA*) と B (*EphB*) に分けられ、ほ乳類では9種類のサブクラス A (*EphA1-8, 10*) と、5種類のサブクラス B (*EphB1-4, 6*) が報告されている (Murai & Pasquale 2003)。*ephrin* もその構造的な違いから、サブクラス a と b に分けられ、ほ乳類では5種類のサブクラス a (*ephrin a1-5*) と、3種類のサブクラス b (*ephrin b1-3*) が報告されている (Pasquale 2005)。基本的には同じサブクラス同士の *Eph* と *ephrin* が結合するが、

図 1A で示すように、異なるサブクラス間での結合も報告されている (Pasquale 2005)。

EphA 群、ならびに *EphB* 群の基本構造は共通しており、どちらも一回膜貫通型であり、タンパク質の N 末端側に細胞外結合ドメインが、C 末端側に細胞内ドメインが位置している。シグナリングに参与する細胞内ドメインは tyrosine kinase domain, sterile α motif (SAM) domain, PDZ-binding domain の3種から成る (図 1B)。一方で、*ephrin* の構造はサブクラス間で大きく異なる。*ephrin-a* 群はグルコシルフォスファチジルイノシトール (GPI) アンカーを介して細胞膜上に存在している (Xi *et al.* 2012) (図 1B)。対して、*ephrin-b* 群は一回膜貫通型タンパク質であり、細胞内にドメインとして、PDZ-binding domain とリン酸化部位を持つ SH2-binding region を有している (Xi *et al.* 2012) (図 1B)。

3. *ephrin*/*Eph* シグナリングと相互作用分子

ephrin ならびに *Eph* を介するシグナルの特徴は、リガンドが液性因子ではなく細胞膜上に存在する事である。よって、シグナリングの活性化には、受容体を発現する細胞と、リガンドを発現する細胞同士が接触することが必要である (*juxtacrine*)。その結果として、受容体を発現する細胞に伝達されるシグナル (Forward シグナル) だけでなく、リガンドを発現する細胞にもシグナル (Reverse シグナル) が伝達される (図 1B)。このように、細胞同士の接着や両方向にシグナルが伝達される特徴が、第4章に述べる組織の領域化や、細胞移動などの制御を可能にしている。

また、*ephrin* と *Eph* との相互作用は、1分子間結合ではなく、それぞれがダイマーを形成し、テトラマーとして存在していることが結晶解析の結果から示されている (Himanen *et al.* 2001)。さらに、会合により膜状に分散する *ephrin* または *Eph* を集合化させる事が、活性化に必須であることも証明されている (Davis *et al.* 1994)。実際に、*Eph* を発現させた細胞に、可溶性の *ephrin* を添加しても *Eph* の細胞内ドメインはリン酸化されない。一方、抗体を用いて可溶型

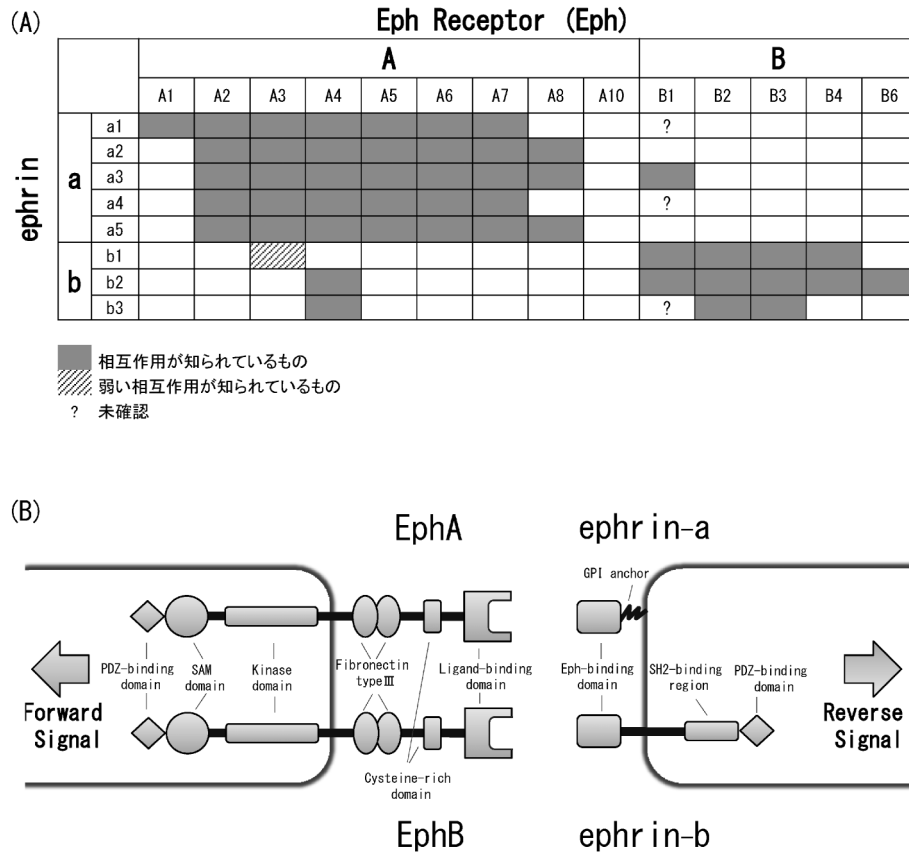


図1 ephrin/Eph の対合性とタンパク質構造
 (A) Eph 群と ephrin 群の対合性とその結合強度を示す。(Jensen *et al.* 2000 を元に作成) (B) Eph ならびに ephrin のタンパク質構造を模式的に示す。Eph 群ならびに ephrin-b 群は一回膜貫通型であり、ephrin-a 群は GPI アンカーを介して細胞膜表面に結合している。(文献 (Xi *et al.* 2012) の図を許可を得て改変)

ephrin を凝集させたものを添加すると、Eph のリン酸化が生じる (Davis *et al.* 1994)。この結果から、ephrin ならびに、Eph がそれぞれ会合体を形成することが、細胞内ドメインのリン酸化に必須であると考えられる。さらに、この特徴を利用し、ephrin または Eph の可溶性分子、もしくは抗体との凝集体を、生きた組織または細胞に作用させることで、特定のシグナルを活性化、抑制化する実験例が報告されている (Conover *et al.* 2000; Holmberg *et al.* 2006)。

また、ephrin-Eph の下流には多くのシグナル分子の関与が報告されている (図 2) (Xi *et al.* 2012)。EphA の活性化により引き起こされる Forward シグナルでは、グアニンスクレオチド交換因子 (GEF) の Ephexin を介して、Small GTPase である RhoA, Rac1, Cdc42 が活性化し、それぞれストレスファイバー形成、葉状仮足 (lamellipodia) 形成、糸状仮足

(filopodia) 形成による細胞形態の変化や移動を制御している (図 2A) (Nobes & Hall 1995; Shamah *et al.* 2001)。EphB の活性化による Forward シグナルでは、GEF である Intersectin や Kalirin の活性化を介し、EphB-intersectin-Cdc42 系により細胞移動 (Irie & Yamaguchi 2002) を、EphB-Kalirin-Rac 系により細胞骨格の再構築、間充織の浸潤、細胞移動を制御することが報告されている (図 2B) (Penzes *et al.* 2003)。一方、Reverse シグナルの伝達は、細胞内ドメインが欠損している ephrin-a の場合、ephrin-a の集合化による膜貫通型アダプタータンパク質のリクルートにより引き起こされる (Davy *et al.* 1999)。その例として、ephrin-a5 は Src-family kinase である FYN をリクルートすることが知られている (図 2C) (Stefanova *et al.* 1991)。Eph 同様に、細胞内ドメイン、ならびに PDZ-binding domain を有する ephrin-b 群のシグナ

リングは、細胞内ドメインのリン酸化から開始する (図 2D)。ephrin-b/Eph 複合体が形成されると、Src kinase family 分子により、ephrin-b の細胞内ドメインである SH2-binding region 内のチロシン残基がリン酸化される (Arvanitis & Davy 2008)。リン酸化された ephrin-b は、PDZ domain もしくは SH2 domain を有するタンパク質との相互作用が可能となる。その相互作用因子の例として、SH2 domain を有するアダプタータンパク質 Growth factor Receptor Bound protein 4 (GRB4) は活性化により、細胞形態の制御や細胞同士の反発に関与する (Cowan & Henkemeyer 2001)。また、GTPase-activating protein である PDZ-RGS3 は、ephrin-b1 の PDZ-binding domain を介して結合し、細胞移動の制御や神経前駆細胞の維持に関与する事 (Lu *et al.* 2001; Qiu *et al.* 2008)、また、zinc finger homeodomain 型転写因子である ZHX2 の相互作用と、神経前駆細胞維持への関与が報告されている (Wu *et al.* 2009)。

さらに、ephrin/Eph は、他の細胞膜受容体との相互作用も知られている。EphA4 は、FGFR1-4 とヘテロ複合体を形成し、FGFR シグナリングの促進による細胞増殖や移動を正に制御する (Fukai *et al.* 2008)。また、Wnt の共役受容体である Ryk (receptor-related tyrosine kinase) (Halford *et al.* 2000; Trivier & Ganesan 2002) や PDZ-binding domain を有し、タイトジャンクションに寄与する Claudin (Tanaka *et al.* 2005)、NMDA 型グルタミン酸受容体 (NMDAR) (Dalva *et al.* 2000)、メタロプロテアーゼである ADAM10 (Solanas *et al.* 2011) などとの直接的な相互作用が知られている。詳細は他の総説を参照されたい (Arvanitis & Davy 2008)。

4. ephrin/Eph シグナリングによる組織の領域化と細胞移動

先に述べたように ephrin/Eph シグナリングは、細胞接着により活性化され、そのシグナルはリガンドならびにレセプターを発現する両細胞へ伝達される (図 1B)。このような、双方向性のシグナル伝達様式は、発生過程において、様々な形質の細胞が特定の場所へ

移動し、定着、個別の細胞集団から成る領域の形成に適した仕組みをしていると考えられる。本章では組織の領域化や細胞の移動に着目し、組織形成における ephrin/Eph シグナリングの役割について概説する。

4-1 ロンボメア形成と Repulsive Guidance

後脳領域の発生過程に生じる分節構造をロンボメアといい、一つ一つのロンボメアから将来、特定の神経細胞が分化する (Kiecker & Lumsden 2012)。従って、各ロンボメアを構成する細胞が混ざり合う事なく、分節を形成する事が必須であり、このロンボメア形成に ephrin/Eph シグナリングが重要な役割を果たしている。ロンボメアにおいて ephrin と Eph はそれぞれ異なるロンボメアの細胞で発現しており、その例としてロンボメア (r)2, 4, 6 には ephrin-b2 が発現し、その受容体である EphA4 は隣接する r3 と 5 で発現する (Daar 2012; Xu *et al.* 1995) (図 3A)。つまり、ephrin-b2 発現細胞と EphA4 発現細胞は Repulsive Guidance により互いに反発し合い、混ざり合う事なく、異なるロンボメア領域を形成していると考えられる。この領域化における ephrin/Eph の重要性は、ゼブラフィッシュを用いた実験から証明されている (Mellitzer *et al.* 1999)。蛍光タンパク質と融合した ephrin-b2 または EphA4 タンパク質を細胞に過剰発現し、両細胞を混ぜ合わせる。すると、2 種類の細胞が混じり合う事なく、細胞集団の領域が形成される (図 3B)。一方で、ephrin-b2 または EphA4 のどちらかの細胞内ドメインを欠損したコンストラクトを過剰発現させると、細胞同士が混ざり合い、領域は形成されない (図 3C)。この結果から、ロンボメア領域の形成には、ephrin-b2 / EphA4 を介した Repulsive Guidance による細胞同士の反発が必要である事、また、その際にはどちらか片方のシグナルではなく Forward シグナルと Reverse シグナルの両方が必要である事が明らかとなった。

4-2 血管新生と Attractive Guidance

ephrin/Eph は細胞同士の反発だけでなく、細胞を誘導することにも寄与している。Xenopus laevis の

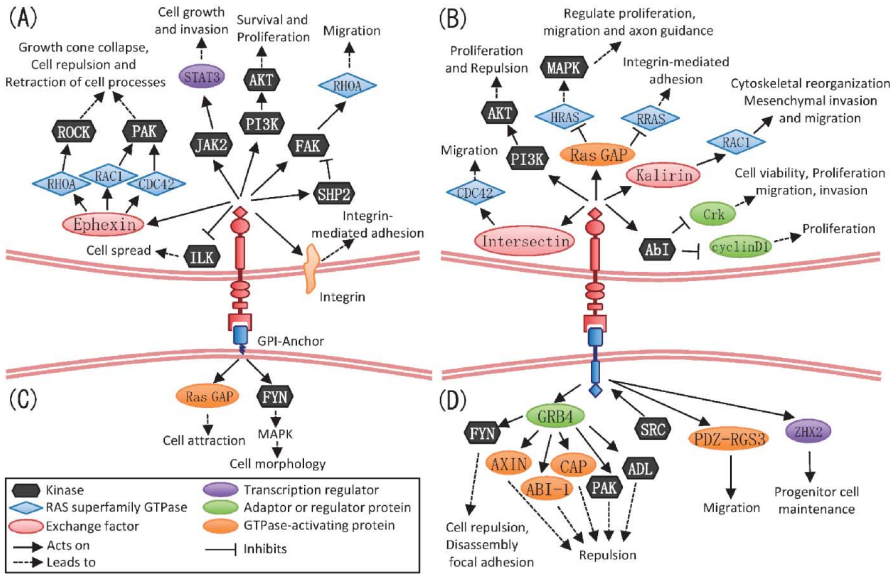


図2 ephrin/Ephシグナリング
(A) EphA 群が活性化した際の Forward シグナリング, (B) EphB 群が活性化した際の Forward シグナリング, (C) ephrin-a 群が活性化した際の Reverse シグナリング, (D) ephrin-b 群が活性化した際の Reverse シグナリングを、それぞれ模式的に示す。(文献(Xi *et al.* 2012) の図を許可を得て改変)

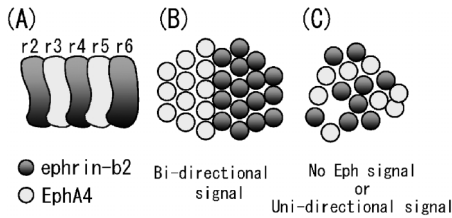


図3 ロンボメア形成と Repulsive guidance
(A) ロンボメア形成過程における ephrin と Eph の発現様式を模式的に示す。ロンボメア(r)2, 4, 6 には ephrin-b2 が発現し、隣接する r3 と 5 ではその受容体である *EphA4* が発現する。(B) ephrin-b2 または *EphA4* タンパク質をそれぞれ過剰発現した両細胞を混合すると、2種類の細胞が混じり合う事なく、細胞集団が形成される。(C) 細胞内ドメインが欠損した ephrin-b2 または *EphA4* を過剰発現させた細胞同士では、混ざり合い、領域形成が生じない。(文献(Daar 2012) の図を許可を得て改変)

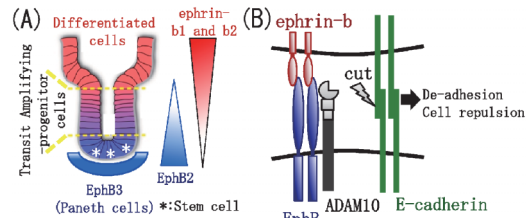


図5 腸管と Graded Segregation
(A) 小腸上皮細胞の細胞構成と、ephrin/Eph の発現様式を模式的に示す。絨毛の根元に存在する陰窩では、底部に幹細胞と Paneth 細胞が存在し、そこから数層上方に分裂状態の前駆細胞 (Transit Amplifying-progenitor cells)、さらに上方に分化細胞が存在する。Paneth 細胞が存在する最低部では *EphB3* が発現し、前駆細胞では *EphB2*、分化した細胞では *ephrin-b1, 2* の発現が高く、ephrin/Eph の勾配が形成される。(文献(Pitulescu & Adams 2010) の図を改変) (B) Ephrin/Eph と ADAM10 の相互作用による E-cadherin の切断機序を示す。ephrin-b/EphB が複合体を形成することで、メタロプロテアーゼである ADAM10 が活性化し、E-cadherin の切断ならびに細胞の反発が生じる。(文献(Solanas *et al.* 2011) より許可を得て改変)

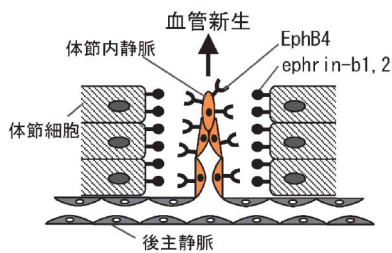


図4 血管新生と Attractive Guidance
Xenopus laevis の発生過程における、後主静脈 (posterior cardinal vein) から体節内静脈 (intersomitic vein) の血管新生を模式的に記す。体節内静脈の血管新生においては、体節細胞で発現する ephrin-b1, 2 と、後主静脈では発現する *EphB4* の相互作用により、体節の間へ血管が誘導される。(文献(Helbling *et al.* 2000) の図を元に作成)

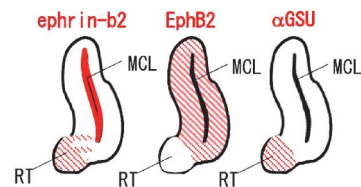


図6 下垂体形成過程における ephrin/Eph の解析
ラット胎齢 (E) 13.5日齢の下垂体原基 (ラトケ囊) における ephrin-b2, *EphB2*、ならびに α GSU の免疫染色像を模式的に示す。赤色で示す部分が各因子の陽性部位である。RT はロストラルチップを、MCL は Marginal cell layer を示す。

発生過程において、後主静脈 (posterior cardinal vein) からの血管新生によって体節間へ血管が進行することが知られている (Helbling *et al.* 2000)。この過程において、*ephrin-b1* ならびに *b2* が体節細胞において発現し、レセプターである *EphB4* が体節と接する後主静脈とそこから派生した体節内静脈 (intersomitic vein) の細胞において発現している (図 4)。体節間に血管が新生する際には、*ephrin-b1, 2* を発現する体節の細胞が、*EphB4* を発現する血管を誘導することで、血管新生のルートが決定される。つまり、*ephrin/Eph* を発現する細胞同士の接触により、細胞の誘導が生じる (図 4) (Helbling *et al.* 2000)。また、同様の現象は、癌組織の発達に必須である血管新生においても報告されている (Noren *et al.* 2004)。乳がん組織の腫瘍細胞に *EphB4* が、そこに隣接する血管内皮細胞に *ephrin-b2* が発現している。そこで、Noren ら (2004) は、腫瘍細胞に発現する *EphB4* から血管内皮細胞へ送られる Reverse シグナルが血管の新生、誘導に重要である事を示すため、*EphB4* の細胞内ドメインを欠損させたドミナントネガティブ型を発現させたヒト乳がん由来の株化細胞 MDA-MB-435 細胞を用いた実験を行った。この細胞では、*ephrin-b2* を発現する血管内皮細胞における Reverse シグナルを活性化する事が可能だが、MDA-MB-435 細胞内での Forward シグナルは活性化されない。このドミナントネガティブ型 *EphB4* 発現細胞を、通常のディッシュ上で培養すると増殖速度に変化は示されない。しかし、この細胞を乳腺上皮周辺の脂肪帯 (mammary fat pad) へ移植すると、*EphB4* ドミナントネガティブ型過剰発現株では、未改変の MDA-MB-435 細胞を移植した際よりも、血管が豊富で大きな腫瘍が形成された。また、別の実験として、リコンビナント *EphB4* タンパク質 (*EphB4-Fc*) を含むゲルで内在的に *ephrin-b2* を発現するヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を培養すると、HUVEC 内で Reverse シグナルが活性化される結果として、ゲル内への浸潤が促進された。このことから、乳がん組織における血管新生においては、*EphB4* から *ephrin-b2* への Reverse シグナルが、血管内皮細胞のがん組織内への誘導にお

いて重要であることが示唆された (Noren *et al.* 2004)。

4-3 腸管と Graded Segregation

ephrin/Eph シグナリングは、小腸を構成する細胞群の位置決定にも寄与している。この組織では、*ephrin* と *Eph* 発現量の逆勾配が形成されることで、各分化段階の細胞を適切な場所に留めること、即ち、Graded Segregation を可能にしている。小腸上皮の構造は、絨毛と絨毛間の窪んだ部分 (陰窩) に大別される。絨毛は、分化した細胞である吸収上皮細胞や杯細胞から構成され、栄養吸収を担っている。一方で、陰窩は絨毛の根元に存在する窪みであり、底部に腸上皮を構成する全ての細胞に分化可能な幹細胞 (陰窩底部円柱細胞) と、それを支持する Paneth 細胞が存在する (図 5A) (Pitulescu & Adams 2010)。それらの細胞から数層上方に、分裂状態の前駆細胞が存在する (図 5A)。このように小腸上皮細胞は、陰窩の底部から幹細胞と Paneth 細胞、分裂状態の前駆細胞、そして分化した細胞という順に、分化度に従い規則正しく配置されている (Pitulescu & Adams 2010)。この分化度に伴う細胞の配置を制御する因子の一つが、*ephrin/Eph* シグナリングであり、*ephrin* と *Eph* の発現勾配が、領域形成に重要であることが明らかにされつつある (Battle *et al.* 2002; Sato & Clevers 2013)。すなわち、幹細胞やその支持細胞である Paneth 細胞では *EphB3* が高発現し、そこから数層はなれた増殖前駆細胞では *EphB2* が高発現する (図 5A)。一方で、分化した細胞群では、これら *Eph* の発現は抑制され、*ephrin-b1* ならびに *b2* の発現が顕著である (図 5A)。このように底部から *EphB3, B2, ephrin-b1, 2* といった勾配が形成され、この勾配により領域化が起こる。つまり、*EphB3* 陽性 Paneth 細胞は、*ephrin-b1* 陽性細胞から反発する形で陰窩の底部に保持される。一方で、分化に伴い *EphB2* の発現が減少し、*ephrin-b1* の発現が上昇するため、分化の進行した細胞は、*Eph* 勾配の高い底部から反発する形で絨毛方向へ移動して行く。実際に *EphB3* ノックアウトマウスでは Paneth 細胞が底部から移動する事や、*EphB2, 3* のダブルノックアウトでは増殖中の前駆細胞と分化

細胞の境界が完全に消失し、混ざり合う事が観察されている (Batlle *et al.* 2002)。また、この ephrin/Eph を介した細胞の反発機構と領域化に関して、接着分子との関係性も明らかになってきた (Solanas *et al.* 2011)。小腸の上皮細胞は接着分子である *E-cadherin* をユビキタスに発現し、*E-cadherin* を介した細胞間接着を形成している。さらに、底部に存在する EphB 陽性細胞においては、細胞内で EphB とメタロプロテアーゼである ADAM10 とが結合している (図 5B)。一方で、分化細胞は *ephrin-b* と *E-cadherin* を発現している。そこで、*EphB* 発現細胞と *ephrin-b* 発現細胞の境界面で、局所的に EphB と *ephrin-b* が結合すると、その細胞面でのみ ADAM10 が活性化し、*E-cadherin* を切断することで、境界面でのみ局所的な細胞間接着の減弱が生じる (図 5B)。しかし、それら細胞の反対面では *E-cadherin* が維持され接着力が保持されることから、その接着力の違いにより境界面において反発が生じると考えられている (Solanas *et al.* 2011)。

4-4 下垂体における ephrin/Eph

我々はこれまでに、下垂体の発生、分化に関して転写因子に焦点を当てた研究成果を報告してきた (諏佐 *et al.* 2007)。下垂体の発生過程においても、その発生、分化に伴い組織の領域化が生じることが知られている。下垂体の発生は、ラット胎齢 (E) 11.5日に口腔上皮が陥入することから開始する。その後、隣接する間脳からの成長因子により、増殖を繰り返しながら陥入が進行し、下垂体原基であるラトケ嚢が形成され、口腔上皮から解離する (de Moraes *et al.* 2012)。この時、将来、隆起葉となる領域(ロストラルチップ、RT)や、幹細胞の微小環境(ニッチ)となる Marginal Cell layer (MCL) の領域が明瞭化する。発生中期では MCL を境に将来の中葉となる領域と、前葉となる領域とが明確に分けられる。Yoshida らは、発生過程から生後にわたり、下垂体における遺伝子発現解析を行い、*ephrin-b* と *Eph* の遺伝子が下垂体において発現していることを見出した (投稿準備中)。これらの知見から、下垂体の発生過程における領域化に、

ephrin/Eph シグナリングが関与していることが推測された。数種類の ephrin ならびに Eph の局在を解析した結果、ラトケ嚢が形成されてロストラルチップ (α GSU 陽性部位) の領域が明確化するラット E13.5 において、*ephrin-b2* がロストラルチップと MCL に強い陽性シグナルが見出された (図 6)。一方で、*ephrin-b2* の Receptor のひとつである EphB2 が、ロストラルチップを除く、将来の前葉ならびに中葉領域で発現していた (図 6)。小腸の陰窩における知見 (Solanas *et al.* 2011) を踏まえると、*ephrin-b2* と EphB2 陽性細胞間での反発が起こり、ロストラルチップの領域が、前葉や中葉の細胞と混ざり合う事なく、領域を形成していると推測される。

5. 下垂体における ephrin/Eph の機能解析に向けた今後の展望

細胞間接着を介した ephrin/Eph シグナリングの特徴は、領域化や細胞移動の他にも多くの機能があると考えられる。実際に、側脳室上衣下層 (SVZ) における幹細胞ニッチでは、幹細胞とそれを支える支持細胞間での分化のタイミングや増殖の制御機序に、ephrin/Eph 系が関与していると報告されている (Nomura *et al.* 2010)。最近、Yoshida らは、成熟下垂体においても複数の ephrin/Eph タンパク質が住み分けて存在していることを確認している (投稿準備中)。成熟下垂体では最終分化した 5 種類のホルモン産生細胞に加え、未分化レベルの違いから複数のポピュレーションを有する幹・前駆細胞 (陳 *et al.* 2012)、さらには血管系の細胞も存在している。我々は、これらの細胞群が、ある一定の秩序を元に局在様式を形成していると考えている。この局在様式の決定に ephrin/Eph シグナリングがどのように関与するのかに興味を持たれる。さらに我々は、下垂体の幹・前駆細胞ニッチは MCL に加え、前葉の実質層においても存在し、幹・前駆細胞同士が CAR という接着分子を介して高密度に接着している事も報告している (Chen *et al.* 2013)。現在、このような幹・前駆細胞同士の接着を介した制御機構の中に、ephrin/Eph が重要な役割を担っている可能性を考え、解析を進めている。この下垂体幹・

前駆細胞ニッチにおける ephrin/Eph シグナリングの解析については改めて報告したい。

引用文献

- Arvanitis D and Davy A: Eph/ephrin signaling: networks. *Genes & Development*, 22: 416–429. 2008.
- Battle E, Henderson JT, Beghtel H, van den Born MM, Sancho E, Huls G, Meeldijk J, Robertson J, van de Wetering M, Pawson T and Clevers H: Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/ephrinB. *Cell*, 111: 251–263. 2002.
- Chen M, Kato T, Higuchi M, Yoshida S, Yako H, Kanno N and Kato Y: Coxsackievirus and adenovirus receptor-positive cells compose the putative stem/progenitor cell niches in the marginal cell layer and parenchyma of the rat anterior pituitary. *Cell and Tissue Research*, 354: 823–836. 2013.
- Conover JC, Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Gale NW, Yancopoulos GD and Alvarez-Buylla A: Disruption of Eph/ephrin signaling affects migration and proliferation in the adult subventricular zone. *Nat Neurosci*, 3: 1091–1097. 2000.
- Cowan CA and Henkemeyer M: The SH2/SH3 adaptor Grb4 transduces B-ephrin reverse signals. *Nature*, 413: 174–179. 2001.
- Daar IO: Non-SH2/PDZ reverse signaling by ephrins. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 23: 65–74. 2012.
- Dalva MB, Takasu MA, Lin MZ, Shamah SM, Hu L, Gale NW and Greenberg ME: EphB receptors interact with NMDA receptors and regulate excitatory synapse formation. *Cell*, 103: 945–956. 2000.
- Davis S, Gale NW, Aldrich TH, Maisonpierre PC, Lhotak V, Pawson T, Goldfarb M and Yancopoulos GD: Ligands for EPH-related receptor tyrosine kinases that require membrane attachment or clustering for activity. *Science*, 266: 816–819. 1994.
- Davy A, Gale NW, Murray EW, Klinghoffer RA, Soriano P, Feuerstein C and Robbins SM: Compartmentalized signaling by GPI-anchored ephrin-A5 requires the Fyn tyrosine kinase to regulate cellular adhesion. *Genes & Development*, 13: 3125–3135. 1999.
- de Moraes DC, Vaisman M, Conceicao FL and Ortiga-Carvalho TM: Pituitary development: a complex, temporal regulated process dependent on specific transcriptional factors. *Journal of Endocrinology*, 215: 239–345. 2012.
- Eph Nomenclature Committee: Unified nomenclature for Eph family receptors and their ligands, the ephrins. Eph Nomenclature Committee. *Cell*, 90: 403–404. 1997.
- Fukai J, Yokote H, Yamanaka R, Arai T, Nishio K and Itakura T: EphA4 promotes cell proliferation and migration through a novel EphA4-FGFR1 signaling pathway in the human glioma U251 cell line. *Mol Cancer Ther*, 7: 2768–2778. 2008.
- Halford MM, Armes J, Buchert M, Meskenaite V, Grail D, Hibbs ML, Wilks AF, Farlie PG, Newgreen DF, Hovens CM and Stacker SA: Ryk-deficient mice exhibit craniofacial defects associated with perturbed Eph receptor crosstalk. *Nature Genetics*, 25: 414–418. 2000.
- Helbling PM, Saulnier DM and Brandli AW: The receptor tyrosine kinase EphB4 and ephrin-B ligands restrict angiogenic growth of embryonic veins in *Xenopus laevis*. *Development*, 127: 269–278. 2000.
- Himanen JP, Rajashankar KR, Lackmann M, Cowan CA, Henkemeyer M and Nikolov DB: Crystal structure of an Eph receptor-ephrin complex. *Nature*, 414: 933–938. 2001.
- Holmberg J, Genander M, Halford MM, Anneren C, Sondell M, Chumley MJ, Silvany RE, Henkemeyer M and Frisen J: EphB receptors coordinate migration and proliferation in the intestinal stem cell niche. *Cell*, 125: 1151–1163. 2006.
- Irie F and Yamaguchi Y: EphB receptors regulate dendritic spine development via intersectin, Cdc42 and N-WASP. *Nat Neurosci*, 5: 1117–1118. 2002.
- Jensen PL: Eph receptors and ephrins. *Stem Cells*, 18: 63–64. 2000.
- Kiecker C and Lumsden A: The role of organizers in patterning the nervous system. *Annual Review of Neuroscience*, 35: 347–367. 2012.
- Lu Q, Sun EE, Klein RS and Flanagan JG: Ephrin-B reverse signaling is mediated by a novel PDZ-RGS protein and selectively inhibits G protein-coupled chemoattraction. *Cell*, 105: 69–79. 2001.
- Mellitzer G, Xu Q and Wilkinson DG: Eph receptors and ephrins restrict cell intermingling and communication. *Nature*, 400: 77–81. 1999.
- Murai KK and Pasquale EB: ‘Eph’ective signaling: forward, reverse and crosstalk. *J Cell Sci*, 116: 2823–2832. 2003.
- Nobes CD and Hall A: Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell*, 81: 53–62. 1995.
- Nomura T, Goritz C, Catchpole T, Henkemeyer M and Frisen J: EphB signaling controls lineage plasticity of adult neural stem cell niche cells. *Cell Stem Cell*, 7: 730–743. 2010.
- Noren NK, Lu M, Freeman AL, Koolpe M and Pasquale EB: Interplay between EphB4 on tumor cells and vascular ephrin-B2 regulates tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 5583–5588. 2004.
- Pasquale EB: Eph receptor signalling casts a wide net on cell behaviour. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 6: 462–475. 2005.
- Penzes P, Beeser A, Chernoff J, Schiller MR, Eipper BA, Mains RE and Huganir RL: Rapid induction of dendritic spine morphogenesis by trans-synaptic ephrinB-EphB receptor activation of the Rho-GEF kalirin. *Neuron*, 37: 263–274. 2003.
- Pitulescu ME and Adams RH: Eph/ephrin molecules—a hub for signaling and endocytosis. *Genes & Development*, 24: 2480–2492. 2010.
- Qiu R, Wang X, Davy A, Wu C, Murai K, Zhang H, Flanagan JG, Soriano P and Lu Q: Regulation of neural progenitor cell state by ephrin-B. *The Journal of Cell Biology*, 181: 973–983. 2008.
- Sato T and Clevers H: Growing self-organizing mini-guts from a single intestinal stem cell: mechanism and applications. *Science*, 340: 1190–1194. 2013.
- Shamah SM, Lin MZ, Goldberg JL, Estrach S, Sahin M, Hu L, Bazalakova M, Neve RL, Corfas G, Debant A and Greenberg ME: EphA receptors regulate growth cone dynamics through the novel guanine nucleotide exchange factor ephexin. *Cell*,

- 105: 233–44. 2001.
- Solanas G, Cortina C, Sevillano M and Batlle E: Cleavage of E-cadherin by ADAM10 mediates epithelial cell sorting downstream of EphB signalling. *Nat Cell Biol*, 13: 1100–1107. 2011.
- Stefanova I, Horejsi V, Ansotegui IJ, Knapp W and Stockinger H: GPI-anchored cell-surface molecules complexed to protein tyrosine kinases. *Science*, 254: 1016–1019. 1991.
- Tanaka M, Kamata R and Sakai R: EphA2 phosphorylates the cytoplasmic tail of Claudin-4 and mediates paracellular permeability. *Journal of Biological Chemistry*, 280: 42375–42382. 2005.
- Trivier E and Ganesan TS: RYK, a catalytically inactive receptor tyrosine kinase, associates with EphB2 and EphB3 but does not interact with AF-6. *Journal of Biological Chemistry*, 277: 23037–23043. 2002.
- Wu C, Qiu R, Wang J, Zhang H, Murai K and Lu Q: ZHX2 Interacts with Ephrin-B and regulates neural progenitor maintenance in the developing cerebral cortex. *The Journal of Neuroscience*, 29: 7404–7412. 2009.
- Xi HQ, Wu XS, Wei B and Chen L: Eph receptors and ephrins as targets for cancer therapy. *J Cell Mol Med*, 16: 2894–2909. 2012.
- Xu Q, Alldus G, Holder N and Wilkinson DG: Expression of truncated Sek-1 receptor tyrosine kinase disrupts the segmental restriction of gene expression in the *Xenopus* and zebrafish hindbrain. *Development*, 121: 4005–4016. 1995.
- Zhou R: The Eph family receptors and ligands. *Pharmacol Ther*, 77: 151–181. 1998.
- 諏佐崇生, 加藤たか子, 加藤幸雄: 転写調節因子による下垂体前葉ホルモン産生細胞の分化とホルモン遺伝子の発現制御—性腺刺激ホルモン遺伝子の発現制御—. *明治大学農学部研究報告*, 57: 99–108. 2007.
- 陳黙, 加藤たか子, 加藤幸雄: 下垂体の幹細胞研究の近況. *明治大学農学部研究報告*, 62: 21–29. 2012.