

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	湊原 圭一郎
論文題目	シナプス後肥厚形成の分子機構の研究		
(論文内容の要旨)			
<p>シナプス後肥厚 (postsynaptic density, PSD) はシナプス伝達を行うためのさまざまなタンパク質が集積した、極めて複雑な複合分子集合体である。PSDの形成不全は脳神経発達疾患などを引き起こすことが知られているが、その形成に関わる分子機構は多くの研究が行われているにも関わらず未解明の部分が多く、解明されるべき疑問が残されている。本論文ではPSDの形成時に分子集積の核となって機能する足場タンパク質SAP102ならびに接着分子LRRTMに着目し、これらの分子に関わる相互作用がPSD形成に果たす役割を調べた。</p> <p>第一に、NMDA型グルタミン酸受容体 (NMDAR) と結合する足場タンパク質であるSAP102およびPSD-95の機能ドメインにおけるNMDARへの結合能の変化が分子集積に及ぼす影響を調べた。PSD-95が有する3つのPDZタイプの機能ドメインであるPDZドメイン1-3のリガンド結合能を欠損させた変異体 (PSD-95-1d2dNS) は野生型のPSD-95に比べシナプス部位での集積効率が低下することが知られている。一方で、SAP102のリガンド結合能欠損変異体 (SAP102-1d2dNS) は野生型SAP102と比べシナプスへの集積効率が増加した。したがって、シナプス集積においてそれぞれの足場タンパク質の機能ドメインは異なる役割を果たすことが示唆された。さらにSAP102-1d2dNSとNMDARのサブユニットを共発現させた神経細胞では、SAP102が効率よくシナプスに局在するにも関わらず、NMDARサブユニットのシナプスへの集積効率は低下した。以上の結果から、SAP102のNMDARとの相互作用はNMDARの効率的なシナプスへの輸送には関わるが、SAP102自体の集積には必要でないことが示唆された。</p> <p>第二に、シナプス形成時に神経細胞の接触部位にシナプス分子が集積する核として機能すると考えられる接着分子であるLRRTMの細胞内ドメインの役割を調べた。LRRTMには4つのサブタイプ (LRRTM1-4) が存在し、それぞれのサブタイプの細胞内ドメインの一部 (C末端から55残基) を欠損させると、LRRTMのシナプス部位への集積効率が野生型に比べて減少した。また、LRRTM1とLRRTM2においてはそれらの欠損変異体で細胞表面への発現量が野生型に比べ増大した。これらの欠損変異体は野生型とは異なる糖鎖修飾を受けていることから、LRRTMの細胞内領域は細胞内輸送機構に関与することが示唆された。さらに一連の欠損変異およびアミノ酸置換変異実験により、シナプスへの集積および発現量にかかわる細胞内領域の配列を特定した。最後に、シナプスへの集積効率が低いLRRTM2の変異体を発現させた神経細胞では、野生型LRRTM2を発現させた場合と比べて、足場タンパク質集積度合が低下した。以上の結果から、細胞内領域を介したLRRTMの効率的なシナプスへの集積はシナプスの成熟化を促進することが示唆された。</p>			

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

シナプスは、増幅や抑制の制御を行いながら細胞間の情報を伝達する場である。前細胞、後細胞のシナプス部位にはイオンチャネルや神経伝達物質受容体、足場タンパク質、シグナル分子などが集積して、神経活動に適応した情報伝達を行う。本学位申請論文では、シナプス後肥厚に集積する足場タンパク質SAP102と新規接着分子LRRTMに焦点を絞り、それらの集積の分子機構と生物学的な意義について新たな知見を報告した。

足場タンパク質SAP102については、分子を構成する3つのPDZドメインのリガンド結合がSAP102自身のシナプス後肥厚への集積効率に及ぼす影響を、光学顕微鏡観察によって定量的に解析した。リガンド非結合型PDZドメインを導入した変異体SAP102を海馬初代培養神経細胞に発現させて、変異体SAP102のシナプス集積を、シナプス部位と樹状突起上の輝度の比(シナプスクラスタリングインデックス)から比較解析した。この結果、以外にもリガンド結合を欠損したSAP102の方が、野生型より効率よいシナプス集積を果たすことが明らかになり、細胞体からシナプス部位へ局在する過程におけるSAP102の役割が注目された。さらに、SAP102のPDZリガンドであるNMDA型グルタミン受容体の局在を検討したところ、変異SAP102導入によってNMDA型グルタミン受容体の集積は低下することが明らかになった。これらのことから、SAP102はPDZドメインを介する相互作用によってイオンチャネルのシナプス部位への輸送に関わることや、SAP102自身のシナプス局在にはPDZ結合は必須でないことを明らかにした。

シナプス接着分子LRRTMについては、シナプス前細胞の接着分子Neurexin等との相互作用に関する研究報告は多いが、LRRTM自身のシナプス局在機構に関する知見は不十分である。本論文では、一連の欠損変異体を活用して、前述の光学顕微鏡による定量的解析によって、LRRTMの細胞内領域(約50残基)が効率よいシナプス集積に必要であり、この領域内の特異的な配列が正常な細胞内輸送に重要であることを明らかにした。また、LRRTMのシナプス集積の低下は、シナプス後肥厚の成熟化を妨げたことから、接着分子LRRTMのシナプス局在はシナプスの成熟化にも寄与することを示した。

これらの知見は、培養神経細胞を用いた定量的光学顕微鏡観察という難易度の高い実験手法を基礎として得られたものであり、シナプス後肥厚を構成するSAP102、LRRTM分子の集積機構の一端を明らかにしたものである。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月15日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：平成26年6月23日以降