

氏名	あべけんたろう 安部健太郎
学位(専攻分野)	博士(生命科学)
学位記番号	生博第115号
学位授与の日付	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	生命科学研究所高次生命科学専攻
学位論文題目	カドヘリン・カテニンによるシナプス可塑性の制御

論文調査委員 (主査) 教授 竹市雅俊 教授 渡邊大 教授 根岸学

論文内容の要旨

神経細胞同士の情報伝達はシナプスを介して行われる。シナプスでは前後シナプス細胞が直接結合しており、細胞間接着の1種である。また、シナプスの構造は神経活動依存的に変化することが知られており、この過程がシナプスの可塑性に重要であると考えられている。カドヘリンを含む細胞接着分子はシナプス前後の細胞膜を直接結びつける分子であり、シナプスの形成・維持において中心的な役割を果たすのみならず、シナプスの可塑的な変化においてもダイナミックにその活性が制御されていると想定され、本研究では多くの細胞種の細胞間接着に中心的な役割を果たすカドヘリン-カテニン細胞接着機構がシナプスの形成・可塑性に及ぼす影響について解析した。

カドヘリンを介する細胞間接着に必要な分子、 α N-カテニンのノックアウトマウスの海馬から神経細胞を培養し、シナプス形成を観察したところ、 α N-カテニンを欠損する細胞でもシナプスは正常に形成されることが判明した。しかし、 α N-カテニンを欠損する細胞ではシナプスが形成される樹状突起スパインの形態に異常が見られ、軸索と樹状突起間の初期の接着構造から、成熟したスパイン・シナプスへの変化の過程に異常があることが認められた。逆に α N-カテニンを過剰発現する細胞ではスパインの成熟とシナプスの形成が促進されており、 α N-カテニンがスパインの成熟に関わることが示された。また、シナプスの動態を観察したところ、 α N-カテニンを欠損する細胞ではシナプスの構造が不安定になっており、活発に動き、高頻度でシナプスが消失すること、逆に、 α N-カテニンを過剰発現する細胞ではシナプスがより安定となり、シナプスの構造変化が抑えられることが明らかとなった。

また、 α N-カテニンのシナプスへの局在は神経活動により制御されており、神経活動を高めた細胞ではより多くの α N-カテニンがシナプスに局在し、神経活動を抑えると α N-カテニンのシナプスへの局在が弱まり、神経活動がカドヘリン・カテニンの働きを制御することが明らかとなった。

神経活動によるカドヘリン-カテニンの制御機構をさらに調べる目的で培養神経細胞の神経活動を誘発すると、シナプスの可塑的な変化を誘発する条件で β -カテニンの断片化がおこることが観察された。この β -カテニンの断片化はNMDA型受容体依存的に活性化したカルパインによって切断されることが分かり、生成する β -カテニン断片はカドヘリンとの結合力が弱く、カルパインによりカドヘリン-カテニン複合体が崩壊することが明らかとなった。また、カルパインによって切断された β -カテニンは内在の β -カテニン分解メカニズムに耐性となり、核へ移行し、Tcf/Lef依存的な遺伝子転写の活性化を引き起こすことが明らかとなった。 β -カテニン断片により制御される内在遺伝子としてFra-1を同定した。また、マウス探索行動の後、 β -カテニンの断片化や、Tcf/Lef依存的な遺伝子転写の活性化が観察され、どちらもカルパイン阻害剤の投与により、抑えられた。

以上の観察から、カドヘリン-カテニンにはシナプスの構造を安定化させる働きがあり、その活性は神経活動によりダイナミックに制御されていることが明らかとなった。また、そのような構造的な可塑性のみならず、 β -カテニンは神経活動依存的なカルパインによる切断を受け安定化し、古典Wntシグナル経路を介して、遺伝子発現の可塑性をも制御している

ことが判明した。さらに、このようなカドヘリン-カテニンによるシナプス可塑性の制御は生体内でも観察され、この制御機構の異常がさまざまな脳機能疾患の病理に関わっている可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

シナプスは細胞間接着の一種であり、その構造の形成・維持に細胞接着分子が重要な役割を果たすことが示唆されている。一方で、シナプスの構造は神経活動依存的に、動的な変形をみせることが知られており、その様な構造的な変形はシナプスの機能的な可塑性と関ると予測されている。このような構造変化を起こすにあたって、シナプスの構造を作り出す、細胞接着分子の活性の制御が必要であると推測されるが、神経活動依存的に細胞接着分子の活性が制御される分子メカニズムについてはまだ明らかとなっていない。

申請者はカドヘリン接着分子の細胞接着活性に必要な分子、 α N-カテニンのノックアウトマウスを用いた研究から、 α N-カテニンの存在しない神経細胞ではシナプスの構造が不安定となり、構造変化が促進されること、また逆に、 α N-カテニンが過剰に存在する神経細胞では過剰に安定化し、構造変化が阻害されていることを見出した。また、このようなシナプスでの α N-カテニンの量の調節が神経活動依存的におこることを示し、神経細胞でこのような α N-カテニンの量の調節が実際におきていることを示した。

また、申請者は、このような神経活動依存的な α N-カテニンの変化をもたらす分子的なメカニズムを解析する過程で、神経活動依存的に β -カテニンの切断がおきることを見出した。また、この切断が、NMDA型受容体依存的に活性化したカルパインによっておこること、切断された β -カテニン断片は正常に分解されなくなる、分解されなくなった断片が核へ移行すること、核で転写因子 Tcf/Lef 依存的な遺伝子転写を活性化することを示した。また、明らかにした遺伝子転写活性化経路は実際に神経細胞で Fra-1 などの遺伝子の発現の制御に関わっており、生体内においても極めて生理的条件においても遺伝子転写の活性化をおこしていることを示した。

本論文により、カドヘリン-カテニンにはシナプスの構造を安定化させる働きがあり、その活性は神経活動によりダイナミックに制御されていることが明らかとなった。シナプスの可塑性がどのような分子メカニズムでおきるのかは神経科学の重要な問題であり、本論文はシナプスの構造が神経活動依存的に変化する具体的な分子メカニズムの一端を明らかにした点で高く評価できる。

また、本論文によって明らかとなった神経細胞での新たな遺伝子転写活性化メカニズムは、 β -カテニンの安定化以降は古典的 Wnt シグナル経路の活性化メカニズムと相同であり、古典的 Wnt シグナル経路を活性化する新たな分子メカニズムと考えられる。これまでさまざまな脳機能疾患において Wnt シグナル経路に関わる分子の異常が報告されており、本論文によって得られた知見はそのような疾患の病理的理解に貢献することが期待される。よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認められる。なお、平成19年1月22日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。