

氏名	まつもと たかこ 松本貴子
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2257号
学位授与の日付	平成12年5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	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	Transient overexpression of NGFI-A gene suppresses NGF-induced neurite outgrowth in PC12 cells. (NGFI-A 遺伝子の一過性過剰発現は PC12 細胞において神経成長因子による神経突起伸長を抑制する)
論文調査委員	(主査) 教授 影山龍一郎 教授 井出千束 教授 野田 亮

論文内容の要旨

NGFI-A 遺伝子は、PC12 細胞において神経成長因子 (NGF) により発現が誘導される転写因子として同定された最初期遺伝子で、核へのシグナル伝達の指標として注目されてきた。NGFI-A は、特に脳において高い発現が認められ、記憶のメカニズムに関係する可能性のある海馬の長期増強 (LTP) においても、その出現と NGFI-A の発現が高い相関を示すことが報告されており、神経系におけるその役割の解明が待たれている。NGFI-A のノックアウトマウスが既につくられているが、メスの黄体化ホルモン産生低下による不妊が見られたが、神経系における明らかな異常は見つかっていない。従って、この遺伝子の生理機能の解明には他の研究手段が必要と考えられる。

本研究では、遺伝子発現をコントロールできる Tet-ON プロモーター系を用いて、PC12 細胞における NGFI-A 遺伝子の生物活性の解析を行った。

まず初めに、この系における NGFI-A タンパク質発現の時間経過をウエスタンブロッティング法で調べた。コントロール実験において、NGF による NGFI-A タンパク質の発現は NGF 添加 1 時間後に一過性に見られたのに対し、ドキシサイクリン添加で誘導される外来性遺伝子由来の NGFI-A 発現は持続期間が一日と長く、また発現量もより多かった。ドキシサイクリン添加後にさらに NGF を添加すると、NGFI-A の発現量は相加的に高まった。

この系を用いて、NGFI-A 遺伝子を PC12 細胞に一過性に過剰発現した場合、増殖や神経突起の伸長などの変化は見られなかった。しかし、一過性 NGFI-A 過剰発現を開始した後に、NGF 添加により神経分化を誘導したところ、神経突起の伸長は有意に抑制された。一方、NGF 添加後に NGFI-A 過剰発現を行っても神経突起伸長の抑制効果は認められなかった。従って、NGFI-A 過剰発現は NGF で誘導される神経分化過程の初期に作用して、神経突起伸長の抑制をもたらすものと推測される。

PC12 細胞では、活性化 Ras タンパク質の発現によって神経突起伸長が誘導されることが知られている。そこで、Ras の神経突起伸長誘導作用に対する NGFI-A の影響を調べた。PC12 細胞に NGFI-A を過剰発現した後、さらに活性化 Ras を発現させたところ、この場合にも神経突起伸長の抑制効果が認められた。以上の結果より、NGFI-A は、NGF シグナル伝達経路において抑制的な役割を担っている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

NGFI-A は、PC12 細胞に神経成長因子 (NGF) を添加した際に発現される最初期遺伝子として同定された転写因子をコードする遺伝子である。本研究では、Tet-ON プロモーター系を用いて、PC12 細胞における NGFI-A 遺伝子の生物活性の解析を行った。その結果、NGFI-A 遺伝子の一過性過剰発現は、

- 1) PC12 細胞の増殖や形態には変化を与えないこと
- 2) NGF や活性化 Ras タンパク質による PC12 細胞の神経突起伸長を有意に抑制すること

などが見出され、NGFI-A が NGF シグナル伝達経路において、抑制的な役割を担っている可能性が示唆された。

以上の研究は、シグナル伝達及び神経分化の分子機構の解明に寄与する所が多く、博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお本学位授与申請者は、平成12年3月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。