

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	上田 修平
論文題目	海馬ニューロンの形態形成におけるRac活性化因子Dock4の役割		
(論文内容の要旨)			
<p>脳神経系の構成単位であるニューロンは特徴的な極性構造を持っており、多くのニューロンは細胞体から、情報の出力を行う一本の軸索と、入力を受ける複数の樹状突起を伸ばしている。これらの神経突起が適切なニューロン間でシナプスを形成し、複雑かつ緻密な神経回路を形成することが、認知、記憶、思考、情動、運動といった高次脳機能の発現に不可欠である。Rhoファミリー低分子量G蛋白質の一つであるRacは、アクチン細胞骨格系の制御を行う分子であり、ニューロンの形態形成に重要な役割を果たすことが知られている。したがって、Racの時間的、空間的な活性調節機構を明らかにすることは、特徴的なニューロンの形態形成、さらには精緻な神経回路形成のメカニズムを解明していく上で重要であると考えられる。</p> <p>申請者の所属する研究室では、Rhoファミリー低分子量G蛋白質の活性化因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF) 群であるDockファミリー蛋白質の一つ、Dock4がRacを特異的に活性化することをこれまでに明らかにした。また、近年のゲノムワイド関連解析の研究から、DOCK4遺伝子が自閉症、統合失調症、失読症などの神経発達障害の感受性遺伝子である可能性がいくつか報告されている。本研究の始めに、私は、Dock4がラットの海馬ニューロンに強く発現していること、さらに初代培養海馬ニューロンにおいて樹状突起の伸長の始まる発達後期からその発現量が上昇することを発見したことから、樹状突起伸長期以降の海馬ニューロンの形態形成におけるDock4の機能解明に焦点を当て、研究を進めた。</p> <p>申請者は、まず、樹状突起形成期におけるDock4の細胞機能を明らかにした。申請者の実験で、培養海馬ニューロンにおいてRNA干渉により内在性のDock4をノックダウンすると、樹状突起の成長が抑制された。これまでの研究から、Dock4はELMOと安定な複合体を形成し、ELMO-Dock4複合体としてRacに対する機能的なGEFとして働くことが知られているため、海馬ニューロンにELMO2とDock4を共発現させたところ、樹状突起の分枝が増加した。一方で、Racに対するGEF活性を失ったDock4の変異体を発現させても樹状突起の分枝は増加しなかった。従って、Dock4はRacを活性化することで樹状突起の成長に促進的に働いていることが示唆された。</p> <p>続いて申請者は、興奮性シナプス後部構造体である樹状突起スパインの形成におけるDock4の機能と、その制御メカニズムを明らかにした。申請者は、Dock4の新規結合蛋白質としてアクチン重合制御分子であるcortactinを同定し、Dock4とcortactinが樹状突起スパインで強く共局在していることを明らかにした。さらに、Dock4は樹状突起スパイン形成に重要な役割を果たしており、Dock4によるスパイン形成の制御には、Racの活性化、およびcortactinとの結合が不可欠であることを明らかにした。従って、Dock4はcortactinと樹状突起スパインにおいて結合し、Racの活性化を介して樹状突起スパイン形成に促進的に働いていることが示唆された。</p> <p>以上のことから、本研究において、Rhoファミリー低分子量G蛋白質Racの活性化因子Dock4が、海馬ニューロンの形態形成に果たす役割と、その制御メカニズムが明らかにされた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、低分子量GTP結合タンパク質活性化因子のなかでも、生体内における機能が未だよくわかっていないDock4について、脳神経系におけるその新しい機能を初めて明らかにし、さらにその活性化の分子メカニズムの一端を解明した研究である。

Dock4はRac特異的なグアニンヌクレオチド交換因子(GEF)であり、RhoファミリーGタンパク質のGEFのうちDockファミリーに属する分子であるが、その機能や発現部位についてほとんど解析されていなかった。本研究は、まず脳の発達に焦点を絞り、Dock4の脳の各発達段階における発現量や発現部位について詳細に調べ、Dock4が海馬の神経細胞の樹状突起の伸長が特に活発に見られる時期において発現が多いことを見いだしている。そこで申請者は実際に海馬の神経細胞を培養することで、Dock4が樹状突起の伸長に関わっていることを明らかにした。さらに本研究ではDock4が樹状突起スパインの形成にも関わっていることを明らかにした。

次に、申請者はDock4のC末端領域と相互作用する分子の同定も試み、Dock4の新たな結合分子としてcortactinを同定し、この相互作用が樹状突起スパインの形成に必要であることを見出した。このような点からこの研究成果はDock4の機能とそのシグナル伝達機構における重要な発見であり、神経細胞の樹状突起の形成、さらには複雑な神経ネットワークの形成過程の基本的な分子機構の解明に大きく貢献するものであるとともに、Dock4との関連が指摘されている神経疾患の発症メカニズムの解明にも寄与する可能性が考えられた。

よって、本論文は、神経細胞における樹状突起の形成とスパインの形成に、Dock4を介するRacの活性化が極めて重要な役割を果たすことを解明した論文として、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、平成25年2月12日、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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日