

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	脇田 洋平
論文題目	海馬ニューロンの形態形成におけるF-BAR/EFC蛋白質Rapostlinの役割		
(論文内容の要旨)			
<p>Pombe Cdc15 homology (PCH) 蛋白質は、細胞膜管状陥入を起こす F-BAR/EFC ドメインを持ち、様々な細胞膜の再構成に重要な役割を果たしている。その中でも、Rapostlin/formin-binding protein 17 (FBP17) は代表的な PCH 蛋白質の 1 つであり、エンドサイトーシスの調整に必須な蛋白質として注目を集めている。また、Rapostlin は Rho ファミリー低分子量 G 蛋白質 Rnd2 のエフェクターとして同定されたが、その神経系における機能は全く不明であった。</p> <p>本論文で私は、Rapostlin が海馬を含む発達段階後期の脳に強く発現していることを見出した。この時期は、樹状突起スパインの形成および成熟が盛んに行われる時期である。初代培養海馬ニューロンにおいて、shRNA による Rapostlin ノックダウンおよび F-BAR ドメインに変異を入れ細胞膜管状陥入を起こす能力を欠失した Rapostlin-QQ を過剰発現すると、スパイン形成が阻害された。Rapostlin-WT の shRNA 耐性変異体を発現させると、Rapostlin ノックダウンによるスパインの減少が回復した。しかしながら、Rnd2 結合領域である HR1 ドメイン、あるいは SH3 ドメインを欠損させた Rapostlin shRNA 耐性変異体 (Rapostlin-ΔHR1、Rapostlin-ΔSH3) を発現させても、スパインの減少は回復しなかった。さらに、海馬ニューロンで Rapostlin のノックダウンおよび Rapostlin-QQ の過剰発現は、トランスフェリンの取り込みを阻害した。Rapostlin のノックダウンと同様に、Rnd2 のノックダウンはスパイン形成およびトランスフェリンの取り込みを阻害した。これらの結果から Rapostlin と Rnd2 が協調的に働き、スパイン形成を制御していることが示唆された。実際、Rnd2 は Rapostlin による細胞膜管状陥入を促進した。</p> <p>以上の結果から私は、F-BAR ドメイン蛋白質 Rapostlin は、Rnd2 による調節を受け、細胞膜ダイナミクスを制御してスパイン形成を制御することを見出し、スパイン形成の新たなメカニズムを明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、細胞膜管状陥入を起こす F-BAR/EFCドメインを持つ分子 (Pombe Cdc15 homology、PCH蛋白質) 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 Rapostlin 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を解明した研究である。

Rapostlin/formin-binding protein 17 (FBP17) は代表的な PCH 蛋白質の1つであり、Rhoファミリー低分子量G蛋白質 Rnd2のエフェクターとして同定されたが、その神経系における機能は全く不明であった。本研究は、細胞膜制御機能を持つ Rapostlin が神経細胞における形態形成の制御に関わることを初めて示したものであり、細胞生物学分野における細胞の形態と細胞膜制御を結びつける分子メカニズムの一端を明らかにした点において、意義のあるものと考えられる。

本研究では、脳の発達に焦点を絞り、Rapostlin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、海馬の神経細胞の樹状突起スパインが特に活発に形成される時期において Rapostlin の発現が多いことを見だし、実際に海馬の神経細胞を培養することで、Rapostlin 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。次に本研究では、Rapostlin がスパイン形成を制御する分子メカニズムの解明を試み、Rapostlin の FCH 領域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。Rapostlin の FCH 領域は、エンドサイトーシスを制御する領域であり、実際に Rapostlin が海馬の神経細胞で恒常的なエンドサイトーシスに関わっていることを明らかにした。さらに、Rapostlin の HR 領域、SH3 領域も樹状突起スパインの形成に必要であることを見出した。Rapostlin の HR 領域は、低分子量 G タンパク質 Rnd2 との結合領域であることから、本研究では Rnd2 が樹状突起スパイン形成に関与していることも明らかにし、Rapostlin の活性が Rnd2 によって制御されている可能性を示唆する結果が得られている。

本論文は、これまで生体内における機能が未知であった Rapostlin の神経細胞における機能とその制御メカニズムについて論理的かつ一貫性をもって示したものであり、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寄与する重要な発見である。これらの理由により、本論文は細胞生物学分野の発展に貢献する重要な論文であるとみなし、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成26年2月7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。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日