

氏 名	と 富 英
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 72 号
学位授与の日付	平 成 18 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 科 統 合 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	カドヘリン・ネクチンによる軸索・樹状突起間の識別機構の解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 竹 市 雅 俊	教 授 上 村 匡	教 授 根 岸 学
--------	----------------------	-----------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

脳の中では、多種多様な神経細胞が互いに組み合わさって、複雑かつ特異的なシナプス結合によって神経回路網を形成している。シナプス結合は神経伝達が行われる場所であると同時に、特殊な接着構造でもある。これまでの研究から、シナプス結合に接着分子カドヘリンが局在することが示されていたが、その機能については明らかにされていなかった。申請者はシナプス結合におけるカドヘリン分子の機能を明らかにするために、以下のような実験を行った。

培養海馬神経細胞において、カドヘリンはシナプス形成の最初期から軸索・樹状突起間に濃縮していた。海馬の成熟した興奮性シナプスは樹状突起スパインとよばれる特徴的なきのこ状の形態をもつが、このシナプスにおいてもカドヘリンは局在していた。ドミナントネガティブ分子を用いてカドヘリン活性をサブタイプ非特異的に阻害すると、正常なシナプスが形成されず、樹状突起スパインの形態が細長い糸状突起状に変化していた。阻害による効果は、シナプス形成の初期において顕著であった。これらのことから、カドヘリンがシナプス形成における樹状突起スパインの形態形成と機能に関与することが示唆された。

続いて、シナプスが通常、軸索・樹状突起間に作られるものであることから、軸索・樹状突起間には何らかの認識機構があるのではないかと考え、細胞接着分子のネクチンに着目して、神経突起間の認識におけるネクチンとカドヘリンの機能についての検討を行った。神経細胞で発現している Nectin-1(N1) と Nectin-3(N3) は軸索と樹状突起の間で異なる局在をしていた。そこで、本来軸索に局在している N1 を樹状突起に異所発現させたところ、樹状突起どうしが絡み合う異常な形態と、軸索・樹状突起の過剰な相互作用が観察された。一方、軸索と樹状突起のいずれにも発現が見られた N3 の過剰発現ではこのような活性は見られなかった。神経突起の形態異常が引き起こされるためには、N1 と N3 の間のヘテロフィリックな相互作用と、カドヘリンの活性が必要であった。しかし、カドヘリンの過剰発現だけでは、このような異常が観察されなかった。また、N1 を欠失させた神経細胞では、軸索・樹状突起間の結合が弱められ、樹状突起スパインの形態が変化していた。これらのことは、軸索に局在する N1 と、樹状突起に局在する N3 によるヘテロフィリックな相互作用が、カドヘリン接着を軸索・樹状突起間において安定に機能させており、適切なシナプス結合を作るうえで重要であるという可能性を強く示唆している。以上のことを踏まえて、カドヘリンとネクチンという二つの接着分子が、シナプス結合に関与するメカニズムについての考察を行った。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

シナプスはあらゆる神経伝達のおこなわれる場所であると同時に、特殊な接着構造である。これまでの研究から、細胞接着分子カドヘリンがシナプス結合に局在することが示されており、シナプスの選択的な結合に働いているのではないかと考えられていたが、具体的な検証は進んでいなかった。

申請者はこのような背景の下、シナプス形成と維持におけるカドヘリンの機能を明らかにする目的で、ラット海馬神経細

胞の初代培養を実験系にして解析を行った。カドヘリンがシナプス結合に局在することを示した後、ドミナントネガティブカドヘリンを用いて、カドヘリンの機能阻害を行った。その結果、本来きのこ状の形態を持つスパインシナプスの形態が細長い糸状突起状に変化することと、機能分子の集積が阻害されることを観察し、正常なシナプス形成が行われないことを示した。このような傾向はシナプス形成の初期段階において顕著であったことから、シナプス形成においてカドヘリンがスパインの形態形成と機能において重要な機能をもつことを初めて明らかにしたものであり、高く評価できる。

続いて申請者は、シナプスは通常、軸索・樹状突起間に作られるものであることから、シナプス形成に先立って、何らかの認識機構があるのではないかと考え、細胞接着分子のネクチンに着目して、軸索・樹状突起間の識別機構についての研究を行っている。最初に、神経細胞で発現しているネクチン-1 (N1) とネクチン-3 (N3) は、軸索と樹状突起の間で異なる局在をしていること、さらに、シナプスに局在することを示した。続いて、本来軸索に発現している N1 を樹状突起に異所発現させることにより、神経突起が絡み合う異常な形態が観察されたこと、及び、軸索と樹状突起のいずれにも発現している N3 の過剰発現ではこのような異常が観察されなかったことから、ネクチンの適切な細胞内局在が、軸索・樹状突起間の相互作用において重要な働きを持つことを示した。また申請者は、ネクチンとカドヘリンが協調的に細胞接着に機能する点に着目し、N1 の異所発現時には、N1 と樹状突起にある内在の N3 がヘテロフィリックに作用することによりカドヘリン接着が安定化されることを示し、軸索・樹状突起間の相互作用にはネクチンとカドヘリンが協調的に機能する必要があることを示した。さらに、この結果を裏付けるように、N1 を欠失させた神経細胞では、軸索・樹状突起間の結合が弱められ、スパインの形態が変化していた。以上の結果に基づいて、申請者は軸索に局在する N1 と、樹状突起に局在する N3 によるヘテロフィリックな相互作用が、カドヘリン接着を軸索・樹状突起間において安定に機能させており、適切なシナプス結合を作るうえで重要であると結論している。

この結果は、シナプスの形成及び維持のメカニズムの解明に大きな貢献をなすものであり、本論文が学位論文として十分に価値のあるものと認める。また、平成18年1月23日に論文内容とそれに関連する口頭試問を行った結果、合格と認めた。