

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	松原 大佑
論文題目	樹状突起のパターン形成における姉妹突起間反発機構の研究		
(論文内容の要旨)			
樹状突起は、神経細胞が感覚入力やシナプス入力を受け取る場所である。異なる種類の神経細胞は、それぞれの種類に固有の樹状突起パターンを発達させている。多様な樹状突起パターンによって、個々の神経細胞が独自の情報処理を達成していると考えられる。様々な樹状突起パターンのうち、「空間充填型 (space filling)」と呼ばれるタイプのものは、二次元の受容野内に樹状突起を均一に張り巡らせている。この空間充填パターンは、樹状突起同士がお互いを避け合うことで成り立っていることが知られている。近年の研究では、その分子機構の一端が明らかにされているものの、不明な点も多く残されている。本研究で申請者は、ショウジョウバエの7回膜貫通型カドヘリン Flamingo (Fmi) が樹状突起の相互忌避に必要であることを示した。Fmi ファミリーは、多くの種で神経細胞の発生の調節に関わることが報告されており、その役割は実に多様である。それにも関わらず、下流の分子シグナルについては詳しく分かっていない。申請者は、LIMドメインタンパク質である Espinas (Esn) が、Fmi の結合パートナーであることを発見し、Fmi と Esn がともに働くことで、樹状突起の反発が引き起こされることを明らかにした。 野生型のショウジョウバエの幼虫では、同一のクラスIV dendritic arborization (da) ニューロンに由来する樹状突起 (姉妹樹状突起) 同士は相互に避け合いながら、受容野を均一に覆っている。ところが、<i>fmi</i> 変異体と <i>esn</i> 変異体、そして <i>fmi/esn</i> トランスヘテロ個体では、姉妹樹状突起同士の頻繁な交差が観察された。そして野生型の神経細胞では Fmi は樹状突起の先端に分布していた。また、異なる細胞系を用いた実験では、Esn は Fmi 依存的に細胞同士の接触部に局在した。これらの実験結果を総合して、申請者は樹状突起の交差忌避における Fmi と Esn の役割を提示した。次に申請者は、PCP 制御因子である Van Gogh、Frizzled、RhoA が樹状突起の交差忌避に必要であることを示した。この結果から、Fmi と Esn を含む、PCP シグナル経路と良く似た分子シグナルによって、樹状突起の交差忌避が制御されていることが明らかになった。さらに Fmi を介するシグナル経路と Hippo - Tricornered キナーゼカスケードとの間の関連性が示唆された。 さらに申請者は、Esn に結合する因子の探索を行い、その候補としてカルシウム結合タンパク質 Cbp53E を見いだした。Cbp53E はカルシウムバッファーと称される哺乳類タンパク質のホモログであり、細胞内の Ca^{2+} の時空間的な広がり調節していると考えられる。<i>Cbp53E</i> の変異体でも樹状突起の交差異常が観察されることから、樹状突起の接触によって、樹状突起内で Ca^{2+} を介したシグナル伝達が発生しているという仮説を提唱した。			

(論文審査の結果の要旨)

神経細胞が伸長させる2種類の突起のうち、樹状突起は入力信号を受け取り、その情報を演算処理する機能を担っている。樹状突起は神経細胞のクラス毎に形状が大きく異なり、狭い空間内で複雑に分岐する。多様な樹状突起パターンの中で、申請者は突起の空間充填型パターンを形成する分子機構の解明に挑んだ。本研究で申請者はまず、7回膜貫通型カドヘリン **Flamingo (Fmi)** が樹状突起の交差忌避に必要であることを示した。さらに、**Fmi** の細胞質領域に結合するタンパク質として **Espinas (Esn)** を同定し、樹状突起内において **Esn** は **Fmi** と協働的に作用して、樹状突起同士の交差を防いでいることを明らかにした。ヒトの *esn* ホモログは運動失調を伴う進行性ミオクロヌスてんかんの原因遺伝子の一つであることが報告されているので、樹状突起の交差抑制機構の破綻が原因となり、てんかん発作が発症する可能性が予想された。

Esn はタンパク質間相互作用に関わる **LIM** ドメインを3個持つので、細胞内で **Fmi** やそれ以外のタンパク質と結合する足場タンパク質として働くことが推測された。そこで申請者は **Esn** に結合する分子を探索し、**Calbindin 53E (Cbp53E)** タンパク質に注目した。**Cbp53E** はカルシウムと結合する **EF-hand** モチーフを複数個持つ、カルシウムバッファーと呼ばれるファミリーに属する。この遺伝子の突然変異体を分離したところ、やはり *fmi* 変異体や *esn* 変異体と同様、樹状突起交差異常が見られた。以上の結果から、申請者は **Fmi-Esn-Cbp53E** シグナル伝達系によって突起先端部でのカルシウム濃度が調節され、突起間忌避が制御される仮説を提唱した。申請者はさらに、細胞内カルシウム濃度の変化を空間的・時間的に高い分解能でデータ取得できる観察系を立ち上げ、**Cbp53E** が実際にカルシウムバッファーとして機能することも明らかにした。

以上のように、分子遺伝学、タンパク質生化学、そして生体内定量イメージングなど複数のアプローチを取り入れた精力的な本研究により、樹状突起の空間充填型パターンを形成する分子機構が明らかにされようとしている。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た。平成25年2月8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：2013年12月31日