

京都大学	博士（生命科学）	氏名	齊藤 康弘
論文題目	神経軸索ガイダンス分子Semaphorin受容体Plexinのシグナル伝達に関する研究		
(論文内容の要旨)			
記憶や学習、運動などの高次脳機能には、正確な神経回路が必要不可欠である。神経回路は、特異な極性を示す神経細胞がその軸索と樹状突起を伸長し、接着により形作る正確で複雑なシステムである。神経軸索は、様々な軸索ガイダンス分子に導かれて正確にターゲット細胞に到達し、神経回路を形成する。軸索ガイダンス分子には誘因性の分子と反発性の分子があり、semaphorinは代表的な反発性の分子であり、その特異的な受容体plexinに結合し、反発作用を発揮する。Semaphorinファミリーの1つ、Sema4Dの受容体、Plexin-B1は、細胞膜1回貫通型の受容体でその細胞内領域に、細胞膜の進展や神経突起伸長を促進する機能があるRasファミリー低分子量G蛋白質の1つ、R-Rasに対するGAPが直接コードされており、R-Rasの活性を抑制し、反発作用を発揮する。神経軸索ガイダンスの分子機構の研究は進んでいるが、一方で、樹状突起の形成の分子機構については不明な点が多い。近年、軸索ガイダンス分子として発見された分子が、軸索ガイダンス作用以外に、樹状突起やシナプス形成の調節においても重要な役割を果たしていることが報告された。そこで、本研究において申請者は、軸索ガイダンス分子、Sema4D/Plexin-B1による樹状突起伸長の調節作用におけるシグナル伝達機構に焦点を当てて解明を試みた。 R-RasはRasファミリーのメンバーであるが、アミノ酸配列の相同性からR-Ras、TC21、M-Rasの3つのG蛋白質でサブファミリーを形成している。Plexin-B1はこれら3つのG蛋白質の中で、R-RasとM-Rasに対してGAP活性を示す。R-Rasは神経軸索に局在し、軸索伸長を制御しているが、M-Rasの神経機能については全く不明であった。ラット脳形成の形成過程で、生後4-20日齢で発現の増加が見られた。また、初代培養大脳皮質神経細胞における内在性のM-Rasの発現を調べたところ、樹状突起が成長する時期から発現の上昇が見られた。M-Rasの神経細胞内局在を調べると、M-Rasは軸索には存在せず、樹状突起に局在していた。そこで、初代培養大脳皮質細胞と初代培養海馬神経細胞を用いてM-Rasの樹状突起の形成における役割を解析し、常時活性型M-Rasの発現は樹状突起の伸長と分枝化を促進し、shRNAで内在性のM-Rasをノックダウンすると樹状突起の伸長と分枝化が抑制された。一方で、R-Rasのノックダウンではこのような抑制は見られなかったことから、R-Rasは軸索に局在し、その伸長を促進するが、M-Rasは樹状突起に局在し、樹状突起の伸長を促進し、R-Rasサブファミリーで異なる2つのG蛋白質、R-RasとM-Rasが性質の異なる2つの神経突起、神経軸索と樹状突起を制御していることが明らかになった。 次に、Sema4D/Plexin-B1によるM-Rasの活性と樹状突起形成における役割を解析した。初代培養大脳皮質細胞で、Sema4Dは内在性のM-Rasの活性を抑制し、樹状突起の伸長と分枝化を抑制した。Sema4Dによる樹状突起の成長の抑制は、常時活性型M-Rasの発現で解除され、Plexin-B1のM-Ras GAP活性を欠損した変異体では抑制活性が見られないことから、Sema4D/Plexin-B1はM-Rasの活性を抑制することにより、樹状突起の成長を負に制御していることが明らかになった。さらに、M-Rasの下流のシグナル伝達を探索した結果、M-RasはMAPキナーゼ経路を活性化し、樹状突起の成長を制御していること、Sema4DはこのM-RasによるMAPキナーゼ経路の活性化を抑制することにより樹状突起の成長を抑制していることが明らかになった。 以上のように、本研究を通して申請者は、R-Rasサブファミリー低分子量 G 蛋白質のなかで、中枢神経系における機能が不明であった M-Rasの神経機能とガイダンス分子、Sema4DによるM-Rasの活性制御を介した樹状突起の成長の調節機構を解析し、神経回路形成で重要なステップである軸索形成の新たなシグナル伝達経路を解明した。			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、**Ras**ファミリー低分子量 **G**蛋白質のなかでもその機能がほとんど不明な**R-Ras**サブファミリーのメンバー、**M-Ras**の樹状突起の成長における役割と軸索ガイダンス分子、**Sema4D/Plexin-B1**による**M-Ras GAP**活性を介した樹状突起の形態の調節機構を初めて明らかにし、神経回路形成における重要なステップである樹状突起形成に関わる分子機構の1つを解明した研究である。

神経回路形成において、樹状突起形成は神経軸索ガイダンスと共に重要なステップであるが、その分子機構には不明な点が多い。軸索ガイダンスに関してはすでに多くのガイダンス分子やそれらの受容体が同定され、そのシグナル伝達機構も徐々に明らかにされている。軸索形成における分子機構として、**Ras**ファミリーのメンバーである**R-Ras**が軸索に局在し、インテグリンを活性化して軸索の伸長を制御していることがすでに明らかにされている。一方、軸索ガイダンス分子として同定された分子が樹状突起形成の調節にも関与することが報告されたが、その分子機構はほとんど不明であった。本研究では **R-Ras**サブファミリーのメンバーの1つ、**M-Ras**が神経系の発生過程で樹状突起形成期に強く発現し、また、神経細胞内で樹状突起に局在し、樹状突起の成長を促進すること、また、軸索ガイダンス分子である**Sema4D**がその受容体**Plexin-B1**に結合し、**M-Ras GAP**活性を介して樹状突起の成長を負に制御することを明らかにした。

本研究は、代表的な反発作用を有する**Sema4D**の受容体**Plexin-B1**が**R-Ras**サブファミリーのメンバーで**R-Ras**に加えて**M-Ras**に対しても**GAP**活性を示し、**R-Ras GAP**活性により神経軸索の反発作用を発揮する一方で、**M-Ras GAP**活性を介して樹状突起の成長抑制を行い、**Sema4D/Plexin-B1**が2つの異なる**G**蛋白質、**R-Ras**と**M-Ras**の活性を制御することにより、機能の異なる2つの神経突起、軸索と樹状突起形成を制御することを明らかにした研究であり、神経科学の重要な解明課題の1つである神経回路形成の分子機構の解明に寄与するものであると考えられる。以上の研究成果の意義に加えて本論文は全体を通して内容もよく、学位論文としては特に問題ない。

よって、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。さらに、平成24年1月30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