

氏 名	きのしたながとき 木 下 暢 暁
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2695 号
学位授与の日付	平成 16 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	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Mammalian septin Sept2 modulates the activity of GLAST, a glutamate transporter in astrocytes. (哺乳類セプチン Sept2 はアストロサイトグルタミン酸トランスポーター GLAST の活性を制御する。)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 月 田 承 一 郎 教 授 井 出 千 束

論 文 内 容 の 要 旨

Sept2 は、セプチンと呼ばれる分子量 40-60kD の単量体 GTPase ファミリーの一員である。セプチンは線維状の重合体を形成し、細胞骨格として機能することが知られている。また、その重合には GTP との結合が必要と考えられている。セプチンは酵母から哺乳類に至るまでその存在が認められ、その多くは細胞分裂に重要な働きをなすことが知られている。一方、哺乳類では成体の脳に発現するセプチンが多数報告されている。一般に成体の脳では細胞分裂は殆ど起きないことから、セプチンには細胞分裂とは違った機能があると考えられる。近年、セプチンの機能として、小胞輸送など細胞分裂以外の機能が報告されているが、脳におけるセプチンの生理的意義については未だ不明な点が多い。

Sept2 は哺乳類セプチンで生体のどの組織にも比較的普遍的に発現しているが、脳はその内でも Sept2 が高濃度に発現している組織である。しかしながら、Sept2 の脳内における組織化学的な局在と機能については全く知られていない。そこで、本学位申請者はセプチンの新規生理機能の解明を目的とし、Sept2 の脳内における機能解析を行った。

Sept2 のマウス成獣脳内における局在を調べた結果、小脳の分子層に最も高い発現が認められた。電子顕微鏡によって、Sept2 は小脳分子層のシナプスおよび軸索を囲むアストロサイトの突起に局在していることが明らかとなった。小脳の分子層におけるアストロサイトの突起はバグマングリアと呼ばれる小脳に特徴的なグリア細胞の突起である。バグマングリアの小脳分子層内の突起にはグリア細胞特異的グルタミン酸トランスポーターの一つである GLAST が高濃度に発現していることが報告されている。そこで、Sept2 と GLAST との免疫組織化学的二重染色を試みた結果、小脳分子層内バグマングリアの突起に、光学顕微鏡および電子顕微鏡いずれにおいても両者の共存が認められた。次に Sept2 と GLAST との分子間相互作用について検討した。免疫沈降法により、マウス脳抽出液及び両者を強発現させた COS7 細胞抽出液において、Sept2 と GLAST との分子間相互作用が認められた。更に詳細に検討したところ、Sept2 は GLAST の細胞内領域であるカルボキシル末端に直接結合すること、GLAST への結合は GDP 結合型 Sept2 に特異的であることが明らかとなった。次に、Sept2 の GLAST への結合が GLAST のグルタミン酸取込み活性にどのような影響を与えるかを調べた。COS7 細胞およびバグマングリア初代培養細胞のいずれにおいても、恒常的 GDP 結合型 Sept2 を強制発現させることによって、グルタミン酸取込み活性の有意な減少が見られた。さらに、この減少は、細胞膜表面に発現される GLAST 分子が減るためであることが生化学的および免疫組織化学的所見から示唆された。

以上、Sept2 は GTP/GDP 結合型依存的に GLAST の活性を制御している可能性が示された。また近年の報告より、Sept2 を含むセプチン線維の形成も Sept2 の GTP/GDP 結合型依存的と考えられることから、Sept2 はセプチン線維の形成と崩壊に連動して、グルタミン酸取込み活性を制御している可能性が考えられる。興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸のアストロサイトによる取込みはシグナル一過性の保障および興奮毒性からの神経細胞の保護という重要な機能に必須と考えられており、本論文の結果はセプチンがその機構に重要な役割を担っていることを示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

セブチンは細胞分裂に重要な働きをなすことが知られている単量体GTPaseファミリーである。一方、細胞分裂の殆どない成体の脳に発現するセブチンが多数報告されており、アルツハイマー病やパーキンソン病といった脳神経疾患との関連を示唆する報告もあるが、その生理的意義は不明な点が多い。そこで、本学位申請者は脳において高発現している哺乳類セブチンの一つであるSept2の生理機能の解析を行った。

本論文において次の点が明らかにされた。

- (1) マウス成獣脳においてSept2は小脳分子層のシナプスおよび軸索を取り囲むバグマングリアの突起に高発現している。
- (2) Sept2はグリア細胞特異的グルタミン酸トランスポーターの一つであるGLASTと共存している。
- (3) Sept2はGLASTの細胞内領域であるカルボキシル末端にGDP結合型特異的に直接結合する。
- (4) 恒常的GDP結合型Sept2の強制発現によって、細胞膜表面に発現されるGLAST分子が減少し、GLASTのグルタミン酸取込み活性が抑制される。

以上の免疫組織化学的、生化学的な結果はSept2がGTP/GDP結合型依存的にGLASTの活性を制御する可能性を示唆するものである。興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸のアストロサイトによる取込みはシグナルの一過性および興奮毒性からの神経細胞の保護に必須と考えられており、本研究の結果は、セブチンの機能解析を通じ、中枢神経系の機能維持機構の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年1月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。