

氏 名	はら だ あまね 原 田 周
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 54 号
学位授与の日付	平 成 17 年 11 月 24 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 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	新規 Rho ファミリー低分子量 G 蛋白質 Rnd1 の結合蛋白質の同定及び 機能解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 根 岸 学 教 授 西 田 栄 介 教 授 上 村 匡
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

低分子量 G 蛋白質 Rho ファミリーは、細胞骨格の制御を通して細胞運動、細胞分裂や形態形成など様々な細胞機能の調節を行う極めて重要な分子である。神経細胞は極めて特異な極性を示す細胞で、神経軸索を進展し、標的細胞に接着することにより複雑な神経回路を形成し、高次脳機能の発現を可能にしている。近年、この神経軸索の進展に、神経細胞内で Rho ファミリー G 蛋白質が深く関わっていることが示された。Rho ファミリーの中で、RhoA, Rac1, Cdc42 の機能はよく研究され、RhoA は神経突起の形成抑制、突起の退縮を引き起こし、Rac1 と Cdc42 は神経突起の進展に関わることがよく知られている。Rho ファミリーでは今までに20種類が存在することが明らかにされているが、上記の3種類以外の Rho ファミリーについて、その生理機能はあまり明らかではない。Rho ファミリーの中で、Rnd サブファミリーは新たに見いだされたグループであり、特に Rnd1 は脳神経系に主に発現していることはわかっているがその神経機能はほとんど不明であった。また、通常低分子量 G 蛋白質は GEF により活性化され、GAP により不活性化されるが、Rnd1 は常時活性型で極めてユニークな G 蛋白質であり、その活性発現の調節機構は全く不明であった。一方、Rnd1 の下流のエフェクターについては Socius や p190RhoGAP に結合し、RhoA の活性を抑制することがよく知られている。

Rnd1 の神経機能を明らかにするため、Rnd1 に結合する分子を酵母の two-hybrid 法を用いてラット脳のライブラリーをスクリーニングし、FGF 受容体に結合し、FGF シグナルに必須の分子、FRS2 に Rnd1 が特異的に結合することを見いだした。FRS2 は FGF 受容体に安定に結合しており、FGF 受容体の活性化により受容体のチロシンキナーゼによりチロシンリン酸化され、そのリン酸化チロシンに Shp2, Grb2 が FRS2 に結合し、MAP キナーゼを活性化して神経突起を伸長することが知られている。Rnd1 は FRS2 に結合しているときは不活性で、FRS2 が FGF 受容体によりチロシンリン酸化されると、FRS2 より Rnd1 が遊離し、RhoA の活性を抑制した。PC12 細胞は NGF 同様に FGF 刺激により神経突起を伸長する。FGF は RhoA の活性を低下させることにより神経突起形成・伸長を促進した。この FGF による神経突起伸長に Rnd1 が必要かを調べるため、Rnd1 特異的な siRNA を作成して内在性の Rnd1 をノックダウンすると、FGF による神経突起の伸長が著しく抑制された。このことから、Rnd1 は FGF シグナルの下流で RhoA の活性調節を介して神経突起の伸長に関わることを明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、Rho ファミリー G 蛋白質の中で、その活性調節や細胞機能がほとんど不明であった Rnd1 の結合分子をスクリーニングし、FRS2 が Rnd1 結合分子であることを発見し、その活性調節機構や神経機能を明らかにした研究である。

NGF や FGF などは MAP キナーゼカスケードを活性化することにより神経突起伸長を引き起こす。一方、この神経突起形成・伸長に Rho ファミリー G 蛋白質が深く関わり、その活性調節が重要であることはわかっていたが、その調節機構には不明な点が多かった。特に、神経突起が形成されるときには細胞膜の cortical actin filament を安定化させている

RhoA の活性の減少が必須のステップであることが知られている。本研究は、Rnd1 が FRS2 に結合し、その結合が FGF 受容体の活性化による FRS2 のチロシンリン酸化で調節され、遊離して RhoA の活性を抑制することにより FGF による神経突起の伸長に深く関わることを明らかにした。本研究は神経突起の伸張における Rho ファミリーの役割を明らかにした研究であり、神経回路形成の基本的な分子機構の解明に大きく寄与するものであると考えられる。

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17年10月13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。