

論文内容の要旨

申請者氏名 阿部 幸喜

神経細胞の軸索は、脳内において正確な神経ネットワークを構築するために、細胞外環境のシグナルを検知して正しい標的細胞へとガイダンスされる。この軸索ガイダンスの様式の一つとして、軸索先端の成長円錐が細胞外基質上の化学シグナルに直接触れて探索しながら正しい進行方向を決定する走触性 (haptotaxis) が知られている。しかし、成長円錐がどのようにして細胞外基質上の化学シグナルを検知して進行方向を決定するのか、その仕組みはよくわかっていない。これまでの研究から、Shootin1a がクラッチ分子として逆行性に移動するアクチン線維と細胞接着分子 L1-CAM を連結することで、成長円錐が移動するために必要な牽引力を生み出すことが明らかとなってきた。また、ラミニンが細胞外基質上の誘引分子として軸索の走触性を引き起こすこと及び L1-CAM が細胞外基質上のラミニンと直接相互作用することが知られている。

本研究で、申請者は、ラミニンとポリリジンのマイクロパターン基質を用いて、Shootin1a および L1-CAM がラミニンによる走触性制御を介した軸索伸長およびガイダンスに必要とされることを見出した。また、牽引力顕微鏡を用いて、ラミニン、ポリリジン両基質上の成長円錐における牽引力を定量したところ、ラミニンが成長円錐の生み出す牽引力を強めることが明らかとなった。次に、アクチン、Shootin1a および L1-CAM の一分子イメージング法を用いてそのメカニズムの解析を行い、これらの分子の逆行性移動速度が、ポリリジン基質上と比較してラミニン基質上の成長円錐において遅くなることを見出した。また、L1-CAM が逆行性移動の過程で細胞外基質をとらえた（グリップした）状態と基質上でスリップする状態を示すことが解った。さらに、ポリリジン基質上と比べて、ラミニン基質上において、L1-CAM のスリップが減少してグリップする割合が増加することがわかった。以上の結果から、成長円錐が、L1-CAM と細胞外基質とのグリップとスリップを利用することにより牽引力を調節して、正しい方向に移動することが明らかとなった。

ヒトの L1-CAM 遺伝子に変異が起こると、軸索ガイダンスの障害や精神発達遅滞、失語症、歩行障害等の症状を伴う L1 症候群を引き起こす。本研究ではさらに、スレオニン 273 が欠損する ($\Delta T273$) L1 症候群の患者由来の L1-CAM によりラミニン基質上における $\Delta T273$ L1-CAM のグリップフェーズの割合が減少し、牽引力も低下することがわかった。また、 $\Delta T273$ 変異により、グリップとスリップの仕組みに障害が生じて、ラミニンを介した軸索ガイダンスに破綻をきたすことが明らかとなった。

以上の一連の結果から、成長円錐に局在する L1-CAM が細胞外基質とグリップおよびスリップを起こすことで、成長円錐の生み出す牽引力の方向を調節して、軸索を正しくガイダンスすることが示唆された。さらに、この L1-CAM のグリップとスリップを介した走触性の仕組みの破綻が、L1 症候群の発症の分子病態のひとつであることが示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 阿部 幸喜

脳内の神経細胞は、軸索を適切な場所に伸ばして、他の神経細胞とシナプス結合を形成することで脳の活動に必要な神経回路を形成する。この軸索ガイダンスの様式の一つとして、軸索先端の成長円錐が細胞外基質上の化学シグナルに直接接触して探索しながら正しい進行方向を決定することが知られており、走触性 (haptotaxis) と呼ばれている。しかし、成長円錐がどのようにして細胞外基質上の化学シグナルを検知して進行方向を決定するのか、その仕組みはよくわかっていなかった。これまでに、申請者が所属するグループは、細胞接着分子 L1-CAM が成長円錐の細胞膜上で軸索を伸ばすための推進力を伝えるタイヤのような働きをすることを見出していた。そこで申請者は、L1-CAM の走触性への関与を調べた。

神経細胞をラミニンとポリリジンのマイクロパターン上に培養すると、ラミニンに沿って軸索を伸ばした。しかし、L1-CAM をロックダウンすると、軸索をラミニンに沿って伸ばすことができなくなった。この結果から、L1-CAM がラミニンに向かう軸索の走触性に必要とされることがわかった。また、軸索の先端では、タイヤにあたる L1-CAM が、ラミニン上では路面にあたる細胞外基質をとらえて (グリップして) 推進力を効率的に生み出し、一方、ポリリジン上ではスリップして推進力が効率的に路面に伝わらないことがわかった。以上の結果から、軸索先端が L1-CAM と細胞外基質 (路面) どのグリップとスリップを利用して正しい方向に進んでゆくことが明らかとなった。

ヒトの L1-CAM 遺伝子に変異が起こると、軸索ガイダンスの障害や精神発達遅滞、失語症、歩行障害等の症状を伴う L1 症候群を引き起こす。今回、スレオニン 273 が欠損する ($\Delta T273$) L1 症候群の患者由来の L1-CAM では、グリップとスリップの仕組みに障害が生じて、軸索が正しい方向に伸びることができないことも明らかとなった。

これまでに走触性の仕組みとして、軸索先端の細胞内シグナル伝達によって調節を受けるモデルが提唱されていたが、本研究により、シグナル伝達に依存せず、細胞と細胞外環境の間に生じる力と分子の滑りを巧妙に利用する仕組みが明らかとなった。軸索ガイダンスの分子メカニクスの解明は、神経再生の治療法開発にとって基盤となる知見である。また、走触性の仕組みは、免疫細胞の移動やがん細胞の浸潤・転移など他の細胞にも存在する可能性が指摘されており、神経科学に加えて免疫学やがん研究といった医学領域の研究への発展も期待できる。

以上のように、本論文は軸索ガイダンスの新たな分子メカニズム (グリップ・スリップメカニズム) を提唱し、さらに精神発達遅滞や失語症、歩行障害等の症状を伴う L1 症候群の分子病態も明らかにしたという点で、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。