

論文内容の要旨

申請者氏名 嶺岸 卓徳

神経細胞の移動は、脳組織および神経回路網の形態形成に不可欠なプロセスである。神経細胞は他の細胞種と異なり、ダイナミックに伸縮する先導突起を用いた跳躍運動と呼ばれる特徴的な移動様式を示す。先導突起は、その先端部の成長円錐が前進することで伸長するが、先導突起と同様に成長円錐を持つ神経軸索では、その伸長メカニズムの一つとしてクラッチメカニズムが重要な役割を果たす。クラッチメカニズムは、クラッチ分子が成長円錐内で逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質を連結し、アクチン線維の逆行性移動の力を細胞外基質に伝えることで軸索伸長を駆動する牽引力が生まれる仕組みである。申請者が所属する研究室は、軸索伸長を担うクラッチ分子 **Shootin1a** とそのスプライシングアイソフォームである機能未知な **Shootin1b** を同定した。先行研究において、**Shootin1** アックアウトマウスでは嗅球の形成不全を示すことが報告された。しかしながら、**Shootin1** がいかにして嗅球形成に寄与するのか解っておらず、また、神経細胞の移動に関与するクラッチ分子も同定されていないため、神経細胞の移動に軸索伸長の様なクラッチメカニズムが関与するのかも不明である。

申請者はまず初めに、**Shootin1** のアックアウトマウスで嗅球形成に関与する嗅球神経細胞の脳内分布に異常があることを見出した。また、**Shootin1b** が細胞移動をする嗅球抑制性神経細胞で発現することを明らかにした。さらに、神経細胞の脳内移植実験により、**Shootin1** アックアウト嗅球抑制性神経細胞が嗅球形成に重要な吻側方向への細胞移動に障害を示すことを証明した。次に、申請者は、嗅球抑制性神経細胞内における **Shootin1b** の動態解析が行ない、**Shootin1b** が先導突起先端部の成長円錐内に濃縮して先導突起の伸長を促進し、さらに、細胞体の牽引を推進することを示した。そこで、嗅球抑制性神経細胞の細胞移動に伴う牽引力を牽引力顕微鏡でフォースマッピングしたところ、**Shootin1b** が生み出す成長円錐下の牽引力が先導突起の伸長のための駆動力として働き、細胞体が先導突起の伸長に伴い牽引されることが明らかとなった。申請者はさらに、蛍光スペckル観察と免疫共沈降実験により、**Shootin1b** がアクチン結合タンパク質 **Cortactin** を介して逆行性移動するアクチン線維と相互作用し、また、細胞接着分子 **L1-CAM** と相互作用することを示した。また、**Shootin1** と **Cortactin** の相互作用を阻害する **Shootin1** ドミナントネガティブ体を過剰発現した嗅球抑制性神経細胞の成長円錐内では、逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質間の連結が阻害された。さらに、この連結が阻害された嗅球抑制性神経細胞は、**Shootin1** アックアウト細胞と同様な細胞移動の障害を示した。以上のように、申請者は、**Shootin1b** が **Cortactin** 及び **L1-CAM** との相互作用を介して逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質を連結するクラッチ分子として働き、成長円錐を駆動する牽引力を生み出して先導突起を伸長させることを見出した。以上の結果から、クラッチメカニズムが神経細胞の細胞移動とそれに伴う脳組織形成においても重要な役割を果たすことを明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 嶺岸 卓徳

脳が正しく形成し、機能を獲得するためには、神経細胞が適切な場所に細胞移動しなければならない。神経細胞は他の細胞種と異なり、細胞移動の際に先導突起を用いる。先導突起は、その先端部を構成する成長円錐が前進することで伸長する。しかし、成長円錐の前進を駆動する分子が同定されていないことから、先導突起の伸長メカニズムの理解は進んでおらず、脳組織形成を担う神経細胞移動には不明な点が多い。先導突起と同様に成長円錐を持つ軸索に関しては、クラッチ分子を介した逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質を連結により生まれる牽引力が軸索伸長を駆動することが知られている。申請者らのグループは、これまでに軸索伸長に参与するクラッチ分子 **Shootin1a** とそのスプライシングアイソフォームの **Shootin1b** を同定した。

申請者は、本論文で **Shootin1** アックアウトマウスが、嗅球神経細胞の脳内分布の異常を示すことを見出した。さらに、**Shootin1b** が嗅球抑制性神経細胞に発現することを見出し、**Shootin1** アックアウト嗅球抑制性神経細胞は細胞移動の障害を示すことを明らかにした。**Shootin1b** は嗅球抑制性神経細胞の成長円錐に濃縮し、先導突起の伸長を促進することで細胞体の牽引を推進することが示された。さらに、嗅球抑制性神経細胞の細胞移動に伴う力学解析により、**Shootin1b** が成長円錐の前進移動のための牽引力を生み出し、先導突起が伸長することで、細胞体が受動的に牽引をされることが示唆された。また、申請者は、免疫共沈降による分子間相互作用解析を通して、**Shootin1b** がアクチン結合タンパク質 **Cortactin** 及び細胞接着分子 **L1-CAM** と相互作用することを見出した。また、蛍光スペckル観察による分子動態解析を通して、**Shootin1b** が **Cortactin** 及び **L1-CAM** との相互作用を介して逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質を連結することを示した。さらに **Shootin1** と **Cortactin** の相互作用を阻害する **Shootin1** ドミナントネガティブ体を用いた解析により、申請者は、**Shootin1b** が逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質を連結するクラッチ分子として働くことを示し、**Shootin1b** を介したクラッチ連結の阻害が嗅球抑制性神経細胞の先導突起の伸長及び細胞移動の障害を引き起こすことを示した。

本論文は、神経細胞の移動において先導突起の伸長を駆動するクラッチ分子を初めて同定した。また、クラッチ分子による先導突起の伸長が神経細胞の細胞移動を推進することを明らかにした。さらに、**Shootin1** アックアウトマウスは嗅球神経細胞の異常な分布を示すことから、クラッチ分子により推進される神経細胞移動が脳組織形成に重要であることが示唆された。

以上のように、本論文は脳組織形成を担う神経細胞移動の分子メカニズムに新たな知見を示すもので、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。