

論文内容の要旨

申請者氏名 Qiu Zhen

脳の発生過程において、神経細胞の軸索は脳内の適切な領域へと導かれ、適切なターゲット細胞とシナプスを形成する。伸長する軸索の先端では成長円錐が細胞外の軸索ガイダンス分子を感知して軸索の伸長およびガイダンスを駆動するための牽引力を生み出す。また、化学分子によって誘導される軸索ガイダンスとして、走化性と走触性が知られている。走化性においては、拡散性化学物質の濃度勾配によって軸索ガイダンスが引き起こされる。一方、走触性では、軸索ガイダンスは細胞外基質上に提示（固定）された化学物質によって制御を受ける。ネトリン-1 は最もよく解析がなされている軸索ガイダンス分子の一つであり、走化性によって軸索ガイダンスを起こすことが知られている。興味深いことに、最近の研究によりネトリン-1 が走化性のみならず走触性の軸索ガイダンス分子として機能することが報告されたが、その分子メカニズムは不明である。

本研究では、ネトリン-1 による走触性を介した軸索ガイダンスの分子メカニズムの解明を目指した。まず、細胞内 1 分子計測法と牽引力顕微鏡を用いた解析により、細胞外基質上に提示されたネトリン-1 が、成長円錐内で逆行性移動をするアクチンフィラメントと細胞外基質の連結を強めることで牽引力を生み出し、培養海馬神経細胞の軸索伸長および走触性を引き起こすことを明らかにした。また、免疫沈降実験と細胞免疫染色により、クラッチ分子 shootin1a がネトリン-1 受容体 DCC と相互作用することがわかった。そこで shootin1a のネトリン-1 による軸索走触性への関与を調べるために、shootin1a をノックアウトしたところ、shootin1a ノックアウトにより細胞外基質上のネトリン-1 による軸索伸長および走触性が阻害されることが明らかとなった。また、アクチンフィラメントの 1 分子計測法により、shootin1a が成長円錐内で逆行性移動をするアクチンフィラメントと細胞外基質の連結を強めることもわかった。さらに、DCC の 1 分子計測により、DCC がネトリン-1 を提示する細胞外基質上では基質を捉えて（グリップして）牽引力を生み出すのに対して、コントリールの基質（ポリリジン）上では逆行性にスリップを起こすことが明らかとなった。

以上の結果から、ネトリン-1 による走触性を駆動する牽引力が、shootin1a を介したネトリン-1 と DCC 間の機械的相互作用によって伝達されることがわかった。また、本研究により DCC がネトリン-1 をリガンドとするシグナル伝達受容体として機能するのみならず、ネトリン-1 をリガンドとする接着性の受容体としても機能することが明らかとなった。成長円錐は、脳内において DCC と細胞外基質との間グリップとスリップを介して基質上のネトリン-1 を検出して、正しい方向性を持った軸索ガイダンスを行うと考えられる。

- やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Qiu Zhen

正常な脳神経ネットワークの形成のためには、神経細胞の軸索が標的細胞に正しく到達する必要がある。軸索の先端に存在する成長円錐は、脳内の誘引分子や反発分子のシグナルを受容し、方向性を持った力を生み出すことで軸索の伸長方向を決定し軸索のガイダンスを引き起こすと考えられている。化学分子によって誘導される軸索ガイダンスとして、走化性と走触性が知られている。ネトリン-1は軸索ガイダンス分子の一つであり、走化性によって軸索ガイダンスを起こすが、最近の研究によりネトリン-1が走化性のみならず走触性の軸索ガイダンス分子として機能することが報告された。しかし、ネトリン-1による軸索の走触性の分子メカニズムは、未だよくわかっていない。

本研究では、細胞内1分子ライブイメージングや牽引力顕微鏡、細胞外基質のマイクロパターンニング技術を用いた走触性アッセイ、さらに *shootin1a* ノックアウトを交えた解析により、ネトリン-1による軸索の走触性の分子メカニズムを明らかにした。即ち、細胞外基質上に提示されたネトリン-1が、成長円錐内で逆行性移動をするアクチンフィラメントと細胞外基質の連結を強めることで牽引力を生み出し、培養海馬神経細胞の軸索伸長および走触性を引き起こすことを解明した。また、クラッチ分子 *shootin1a* がネトリン-1受容体 DCC と相互作用することで、成長円錐内で逆行性移動をするアクチンフィラメントの動きを細胞外基質に伝えることもわかった。さらに、DCCの1分子計測により、DCCがネトリン-1を提示する細胞外基質上では基質を捉えて（グリップして）牽引力を伝えるのに対して、コントロールの基質（ポリリジン）上では逆行性にスリップを起こすことで効率的に牽引力を伝えることができないことが明らかとなった。

以上の結果から、ネトリン-1による走触性を駆動する牽引力が、*shootin1a* を介したネトリン-1と DCC 間の機械的相互作用によって伝達されることがわかった。また、本研究により DCC がネトリン-1をリガンドとするシグナル伝達受容体として機能するのみならず、ネトリン-1をリガンドとする接着性の受容体としても機能することが明らかとなった。成長円錐は、脳内において DCC と細胞外基質との間グリップとスリップを介して基質上のネトリン-1を検出して、正しい方向性を持った軸索ガイダンスを行うと考えられる。

以上のように、本論文は、脳内における神経ネットワーク形成の分子メカニズムの一端を明らかとするもので、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。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】