

論文内容の要旨

申請者氏名 Kastian Ria Fajarwati

樹状突起スパインは、神経細胞の樹状突起上に形成される小さな突起物であり、グルタミン酸を神経伝達物質とする軸索終末の入力を受けて、興奮性シナプスのシナプス後部として機能する。また、樹状突起スパインは、アクチン線維に富み、神経回路網の形成や記憶・学習の過程でその数や形、大きさがダイナミックに変化する。特に、グルタミン酸を介したシナプス活動に伴う樹状突起スパインの拡大は、シナプスの伝達効率を上げることにより記憶や学習に重要な役割を果たすと考えられている。この様な、シナプス活動に伴う樹状突起スパインの拡大にはアクチン線維の重合が重要な役割を果たすことがわかっているが、アクチン線維の重合がいかんにしてスパインの拡大のための力を生み出すのかは不明である。

これまでの研究により、Shootin1a が軸索先端で重合・脱重合を繰り返して逆行性移動をするアクチン線維と細胞接着分子 L1-CAM を連結することにより軸索伸長に必要な推進力を生み出すことが報告されている。また、軸索誘引分子 Netrin-1 の刺激により軸索先端の Shootin1a が Pak1 を介してリン酸化されると、軸索伸長のための推進力が促進されることが示された。

そこで、申請者は本研究で Shootin1a の樹状突起スパインにおける役割を解析し、Shootin1a が樹状突起スパインに局在して逆行性移動をするアクチン線維と L1-CAM を連結することを見出した。また、Shootin1 ノックアウトマウスでは、海馬神経細胞上のスパインの数が減少し、成熟型のスパイン (mushroom-shaped spine) 割合も減少することを明らかにした。一方、Shootin1a を過剰発現した神経細胞ではスパインの数が増加した。さらに、Traction force microscopy の技術を用いて樹状突起スパインで発生する牽引力の計測に成功した。また、Shootin1a と L1-CAM との結合を阻害するドミナントネガティブ体 Shootin1 (1-125 a.a.) を過剰発現すると、樹状突起スパインで発生する牽引力が低下し、樹状突起スパインの数も減少した。

また、これまでの研究により、樹状突起スパインをグルタミン酸で刺激すると NMDA 受容体の活性化を介してスパインの拡大が起こることが知られている。そこで、培養海馬神経細胞をグルタミン酸で刺激すると、Shootin1a が Pak1 によりリン酸化されることがわかった。さらに、Shootin1a と L1-CAM との結合を阻害するドミナントネガティブ体 Shootin1 (1-125 a.a.) を過剰発現すると、NMDA 受容体の活性化を介したスパインの拡大が抑制された。

以上の結果から、Shootin1a が逆行性移動をするアクチン線維と細胞接着分子 L1-CAM を連結することによりスパインの形成と成熟のために必要な力を生み出すことが明らかとなった。さらに、神経活動に伴うスパインの拡大が、Shootin1a のリン酸化に伴うアクチン線維と L1-CAM の連結の強化による力の発生によって引き起こされることが示唆された。

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】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Kastian Ria Fajarwati

樹状突起スパインは、神経細胞の樹状突起上に形成される 0.5-2 μm の小さな突起物であり、興奮性シナプスのシナプス後部として機能する。また、樹状突起スパインは、神経回路網の形成や記憶・学習の過程でその数や形、大きさがダイナミックに変化する。特に、グルタミン酸を介したシナプス活動に伴うスパインの拡大は、シナプス伝達効率を上げることにより記憶や学習に重要な役割を果たすと考えられている。また、スパインの形成やシナプス活動に伴うスパインの形態変化に支障が生じると、自閉症や、統合失調症、アルツハイマー病等の神経疾患の発症につながると考えられており、樹状突起スパイン形成のメカニズムの解明は、現在、神経科学の重要な研究テーマとなっている。これまでの膨大な量の研究から、スパインの形態変化にアクチン細胞骨格の動態が重要な役割を果たすことがわかってきた。しかしながら、アクチン動態がいかんしてスパインを拡大させるための力を生み出すのかは不明であった。

本研究は、Shootin1a が、逆行性移動をするアクチン線維と細胞接着分子 L1-CAM を連結することにより、樹状突起スパイン形成のための力を生み出すために重要な役割を果たすことを明らかにした。さらに、グルタミン酸 NMDA 受容体を介したシナプス活動に伴うスパインの拡大が、Shootin1a のリン酸化に伴うアクチン線維と L1-CAM の連結の強化による力の発生によって引き起こされることを示した。

本研究成果の特筆すべき点は、まず、樹状突起スパインが生み出す力の計測に初めて成功した点である。これまでに、細胞移動や軸索伸長のための力は複数のグループによって計測されていたが、樹状突起スパインはそのサイズが 0.5-2 μm と極めて小さいため、力の計測が困難だった。本研究では、力をモニターするための蛍光ナノビーズのサイズを最適化することで微細な構造体スパインが生み出す力の計測の成功し、スパイン形成の力学的な解析を行った。

また、これまでは、スパインの形態変化はアクチン線維の重合、安定化や脱重合で説明されていたが、本研究は、アクチン動態がスパインの形態変化を引き起こすうえで必要ではあるものの十分ではない点を明らかにした。すなわち、アクチン線維の重合がスパインの先端を押してスパインを拡大させるためには、シナプス活動に依存してアクチン細胞骨格を細胞接着分子 L1-CAM 介して細胞外基質に繋ぎ留めることでアクチン重合がスパインを押すための足場を形成する必要があることを示した。この様に、本論文は、従来のアクチン線維中心のモデルを発展させて、アクチン線維とシグナル伝達、細胞外基質を統合したスパイン形成・可塑性の力学的モデルを提唱した。

以上のように、本論文は神経回路網形成および神経シナプス可塑性の分子メカニズムの一端を明らかにしたもので、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】