The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A Novel FERM Domain Including Guanine Nucleotide Exchange Factor Is Involved in Rac Signaling and Regulates Neurite Remodeling
Author(s)	久保, 盾貴
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/3294
rights	Copyright: Society for Neuroscience
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【30】

氏　　名	久　保　盾　貴（くぼ たてき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８９４６　号
学位授与年月日	平成 16 年 6 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学　位　論　文　名	A Novel FERM Domain Including Guanine Nucleotide Exchange Factor Is Involved in Rac Signaling and Regulates Neurite Remodeling （新規の FERM Domain Including Guanine Nucleotide Exchange Factor は Rac のシグナルを介し神経軸索の伸展を制御する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　細川　　亙 （副査） 教　授　祖父江憲治　　教　授　吉川　秀樹

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕RhoA、Rac1、Cdc42 に代表される Rho ファミリーGTPase はアクチン細胞骨格の制御に重要な役割を果たしており、神経軸索の伸展および退縮にも深く関与している。Rho ファミリーGTPase は不活性型の GDP 結合型と活性型の GTP 結合型が存在するが、不活性型の GDP 結合型の GTPase に作用して、GDP-GTP 交換反応を促進し、活性型の GTP 結合型とするのが GDP-GTP exchange factor（GEF）である。今回我々は、Rho ファミリーGTPase が神経軸索の伸展制御に関与することから、GEF もまた神経軸索の伸展制御に関与し得るという考えの下に、新規の Rho ファミリーGTPase の GEF の機能解析を行った。

〔方法ならびに成績〕Dbl homology domain（DH domain）を有するものが Rho ファミリーGTPase の GEF として作用し得るということは知られており、我々は DNA データベースから DH domain を有する新規の DNA を探索し、一つの遺伝子に着目した。それが FERM domain と DH domain を有することから、FERM domain including RhoGEF（FIR）と我々は名づけた。FIR はノザンブロット法では adult mouse の脳と肺に強く発現し、また、E18 mouse より採取した培養大脳皮質ニューロン、培養海馬ニューロンにおいても RT-PCR 法にて強く発現することから、神経細胞において FIR が何らかの作用を示すことが示唆された。次に、FIR が Rho ファミリーGTPase の RhoA、Rac1、Cdc42 のいずれに作用するかを調べた。大腸菌より発現させた RhoA、Rac1、Cdc42 をそれぞれ放射性物質でラベルした GDP と結合させた後、FIR の DH domain と作用させどの程度 GDP が RhoA、Rac1、Cdc42 から解離されるかを検証したところ、Rac1 と結合した GDP がもっとも解離されたことから *in vitro* では FIR は Rac1 の GEF であることが判明した。そして、HEK293T 細胞に FIR と、RhoA、Rac1、Cdc42 のうちいずれかを強制発現させた後、細胞内の活性型 Rho ファミリーGTPase をウェスタンブロット法で調べたところ Rac1 の活性型が強く検出されたことから、*in vivo* でも FIR は Rac1 の GEF であることが明らかになった。さらに、NIH3T3 細胞は RhoA、Rac1、Cdc42 のそれぞれが活性化された時、特徴的な表現型を呈することは知られているが、FIR を NIH3T3 細胞に強制発現させると、Rac1 が活性化された時の表現型に一致したことからも FIR は Rac1 の GEF であることが示唆された。

次に、FIR が神経軸索の伸展制御に関与するかを調べた。E18 mouse より採取した培養大脳皮質ニューロンに FIR

をリポフェクション法で強制発現させると、空のヴェクターを強制発現させた大脳皮質ニューロンと比べ、神経軸索の伸展が有意に抑制されていた。そしてその伸展抑制は、dominant negative Rac1 を FIR と共発現させると打ち消された。また、dominant active Rac1 を大脳皮質ニューロンに強制発現させると FIR を強制発現した場合と表現型が一致した。以上より、FIR は神経軸索の伸展制御に関与し、それは Rac1 を介していることが判明した。

〔総括〕我々は、Rho ファミリーGTPase の上流において GEF として作用する新規の遺伝子を同定した。その遺伝子は FERM ドメインを有し Rho ファミリーGTPase の GEF として作用することから、我々は FERM domain including RhoGEF（FIR）と名づけたが、FIR は Rho ファミリーGTPase の中でも Rac1 のシグナルを介し、神経軸索の伸展制御に関与していた。

論文審査の結果の要旨

本研究では、アクチン骨格の制御に重要な役割を果たし神経軸索の伸展および退縮にも深く関与する Rho ファミリーGTPase の上流において、GDP-GTP exchange factor（GEF）として作用する新規の遺伝子を同定した。その新規遺伝子は FERM ドメインを持ち RhoGEF として作用することから、FERM domain including RhoGEF（FIR）と名づけられたが、FIR は中枢神経組織で発現されており、FIR を線維芽細胞に強制発現させるとストレスファイバーの変化が見られ、また、神経細胞に強制発現させると形態の変化や突起伸展に変化が見られることが明らかになった。そして、それらの作用は、Rho ファミリーGTPase のなかでも Rac1 を介していることを発見した。以上の研究結果は神経軸索再生に関する基礎研究として重要な結果を示したと考えられ、学位の授与に値するものと認める。