OUKA
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 |
| 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<br>（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）<br>教授 細川 亙<br>（副査）<br>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。