

Title	Purification and Characterization of an 82-KDa Membrane Protein As a Neurite Outgrowth Factor Binding Protein
Author(s)	谷浦, 秀夫
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37749
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	谷 浦 秀 夫
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 9 8 8 1 号
学位授与年月日	平成 3 年 8 月 8 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	Purification and Characterization of an 82-KDa Membrane Protein As a Neurite Outgrowth Factor Binding Protein (神経突起伸展因子に結合する82KDa膜蛋白質の精製とその性質)
論文審査委員	(主査) 教 授 三木 直正 (副査) 教 授 和田 博 教授 祖父江憲治

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

神経細胞の突起伸展は様々な要因によってコントロールされている。例えば、要因として細胞外因子、発生時期、細胞の相互作用などがあげられる。近年、ラミニンあるいはラミニン様物質が神経系の発生、再生過程に重要な役割を果たしていることがわかってきた。神経突起伸展因子 (Neurite Outgrowth Factor; NOF) は、ニワトリ砂嚢筋より精製された約700kDaの糖蛋白質で培養ニワトリ胚毛様体神経節 (CG)、網膜ニューロンに対して著明な突起伸展活性を有する。NOFはラミニンファミリーに属する蛋白質であると考えられるが、そのサブユニット構造、抗原性などの違いがある。神経の突起伸展の分子機構を探る目的でNOF受容体の単離を試みた。

〔方法ならびに成績〕

NOF受容体の条件として、①NOFと特異的に結合する膜蛋白質であること：膜蛋白質をSDS-PAGE後、ニトロセルロース膜へ転写させ、その膜上でNOFと結合させ結合蛋白質を検出する方法 (リガンドプロット法) を用いた。②NOFの突起伸展活性ドメインと結合すること：NOFを塗布した培養皿にNOF受容体を含む膜蛋白質試料を加え反応させておくと、CGニューロンからの突起伸展が阻害されるという方法 (阻害活性法) を用いた。これらの条件を満たす膜蛋白質がニワトリ砂嚢筋、骨格筋、胎児網膜に比較的多く存在することを認めた。本研究では、まず砂嚢筋膜分画よりNOF受容体の精製を行った。精製NOF受容体は、SDS-PAGE上で82kDaのダブルバンドとして観察された。NOF受容体は、100℃処理あるいはトリプシン処理によって活性を失い、またDTT処理に

よりリガンド（NOF）との結合能を失った。抗NOF受容体血清は、網膜において82kDa膜蛋白質を認識し、神経系でのNOF受容体は砂嚢筋と類似あるいは同一の構造をしていると考えられた。抗NOF受容体血清をCG、網膜ニューロンの培養系に添加したところ、この抗体はNOFによるニューロンの突起伸展を阻害した。このことよりNOFとその受容体の結合が、突起伸展反応に必須であると考えられた。しかし、本抗血清はラミニンで誘導される突起伸展反応には何ら阻害効果を示さなかった。神経細胞からの突起伸展は一般に加齢が進むにつれて起こらなくなる。培養系で10日目胚までのCG、網膜ニューロンは、NOFに反応して突起を著明に伸ばす能力があるが、それ以後の胚からのニューロンは、NOFに対する反応性が急速に低下し、16日目胚になるとほとんどNOFと反応しなくなる。そこで抗NOF受容体血清を用いて8日目胚と18日目胚網膜で免疫組織化学を行った。8日目胚網膜では、NOF受容体は神経節細胞層および視神経層に観察されたが、18日目胚網膜では消失していた。同様の結果は、リガンドプロット、イムノプロット法にても認められた。このことから神経細胞から加齢とともに突起の伸展が起こらなくなる原因の一つとして、NOF受容体が加齢により減少するためであることが示唆された。

〔総括〕

NOFに結合する82kDa膜蛋白質を見出し、精製した。諸性質よりNOF受容体である可能性を強く示唆する結果を得た。細胞外マトリックス蛋白質の細胞接着に関与した受容体としてインテグリンが知られているが、精製したNOF受容体はインテグリンとは異なる新しい受容体蛋白質であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、神経突起伸展因子（NOF）に結合する82kDa膜蛋白質を砂嚢筋より精製し、その性質を調べたものである。同様の82kDa膜蛋白質がNOFに反応性のある神経系にも存在することを示し、この抗体がNOFによる突起伸展を阻害することが強く示唆された。また、加齢に伴う82kDa膜蛋白質の減少がNOFに対する神経細胞の反応性の低下に相関していることも示した。本研究は、細胞外マトリックスに対する新しい膜受容体の存在を示したもので、神経細胞の突起伸展の分子機構の解明に有用であり、学位の授与に値すると思われる。