OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Formation and Stabilization of Microtubules during Neuritogenesis
Author(s)	関本, 澄人
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39562
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	関本澄人
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 12191 号
学位授与年月日	平成7年12月21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	Formation and Stabilization of Microtubules during Neuritogenesis （神経突起形成過程における微小管の生成と安定化）
論文審査委員	（主査） 教授 畠中 寛 （副査） 教授 吉川 和明　教授 小倉 明彦

論文内容の要旨

神経突起は細胞間での情報の直接的な伝達経路として重要であり，成長期には速やかに伸長して正しい回路網を形成し，それ以後は安定に維持される。こうした突起の安定性を維持し，なおかつ状況に応じた速やかな安定性変化を引き起こしているのは神経突起内の細胞骨格系であると考えられる。微小管は神経組織において最も主要な細胞骨格系であると同時に物質輸送にも関与することが知られている。そこで，今回，私は神経突起に局在する微小管の性質を明らかにするために以下のような解析を行った。

1. 成熟軸索内には低温／Ca^{2+}不溶性チューブリンが存在する

微小管の主要構成蛋白であるチューブリンは神経軸索以外にも広く分布する。神経軸索由来のチューブリンのみを生化学的に分析するために放射標識アミノ酸をラット坐骨神経細胞体領域に打ち込み，合成される蛋白を放射標識した後，軸索内に輸送されてきたチューブリンを解析した。その結果，全放射標識チューブリンの約50％が低温（4℃），Ca^{2+}（1 mM）といった微小管脱重合条件下でも可溶化されなかった。更に凍結障害を加えることにより生じた再生軸索中では不溶性チューブリンの量比の低下が観察された。

2. 低温／Ca^{2+}不溶性チューブリンは神経突起形成と関連する

低温／Ca^{2+}不溶性チューブリン（InsT）の詳細な解析を行うのに，より適当な系として，新たにラット後根神経節細胞初代培養系を確立した。1.の場合と同様，培養神経細胞においてもInsTの存在が確認された。InsTは培養開始直後に5％に過ぎないが，培養6日まで急激に増加し，以降60％を維持した。InsTの急増期，その後の時期がそれぞれ神経突起伸長期と神経回路網形成期とに対応することより，InsTと神経突起形成との関連が示された。

3. 低温／Ca^{2+}不溶性チューブリンの実体は安定重合型微小管である

InsTの神経細胞内での実体を明らかにするためにビデオ増強微分干渉顕微鏡（VEC－DIC）による形態学的解析を行った。2.と同様の培養細胞をフローセル内にセットすることにより，同一突起に段階的な操作を加え，経時的に観察できるように工夫した。VEC－DIC 検鏡下で0.2％ Triton X－100 により細胞膜を除去すると，神経突起では微小管様の線維構造が露出された。この線維は抗βチューブリン抗体に対する免疫反応性を有すること，並びに電顕的に径

約25nmの管状構造として観察されることから微小管であることが確認された。この観察系を使って，回路形成の完了した神経突起（成熟突起）を検鏡すると全微小管のおよそ50％が過剰量の緩衝液による洗浄，低温及びCa^{2+}処理に対しても安定に重合し続けた。神経突起形成過程のごく初期にはこうした安定重合型微小管は観察できず，神経突起の伸長期間中はInsTの増加とほぼ平行して安定型微小管の増加が進行することより，安定重合型微小管がはInsTの実体であると断定できる。また，突起伸長期に見られる安定型微小管は全て束を形成することによって安定化していると考えられるのに対し，成熟期の突起では各々の微小管が独立に安定型微小管として存在しており，個々の微小管レベルでの安定化も確認された。

以上より神経突起には安定重合型微小管が存在し，神経突起形成において重要な役割を果たしていると結論付けられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は，神経系の情報伝達に欠かせない突起の形成に必要な，微小管の生成と安定化について研究したものである。関本君は，安定型微小管の存在が突起の形成に欠かせないことを，生化学的，細胞生物学的，形態学的に明らかにしており，博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。