The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional Analysis of CD47/IAP in Cultured Central Nervous System Neurons
Author(s)	小清水, 久嗣
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43623
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

【43】

氏　　名	小清水　久　嗣（こしみず　ひさつぐ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　16774　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学　位　論　文　名	Functional Analysis of CD47/IAP in Cultured Central Nervous System Neurons （培養中枢神経細胞における CD47/IAP の機能解析）
論文審査委員	（主査） 教　授　永井　克也 （副査） 教　授　小倉　明彦　　教　授　岡田　雅人

論文内容の要旨

CD47/IAP（integrin-associated protein）の中枢神経系における機能の詳細については未だ多くの知見は得られていない。本研究では CD47/IAP を発現するアデノウイルスベクターを作製し、CD47/IAP の中枢神経細胞における機能解析を行った。まず神経細胞の生存に対する CD47/IAP の影響について解析を行った。無血清条件下において CD47/IAP を発現させると MOI 依存的に神経細胞死が誘導され、この細胞死においては TUNEL 陽性細胞数が増加しており、Hoechst 染色においてはクロマチン凝縮を示す細胞の割合が増加していた。また、この神経細胞死は、caspase-3,-6,-7に対する阻害剤である Ac-DEVD-CHO 添加によっては抑制されなかったのに対し、より広い阻害スペクトルを有する caspase 阻害剤 Z-VAD-fm k 添加により顕著に抑制された。また CD47/IAP による細胞死における BIT/SHPS-1の影響を調べるために、CD47/IAP とその結合相手分子である BIT/SHPS-1を培養大脳皮質ニューロンにおいて共発現させたところ、BIT/SHPS-1は、CD47/IAP による細胞死を増強させることを見いだした。この共発現による細胞死は BDNF により顕著に抑制された。以上の結果から、CD47/IAP が培養大脳皮質ニューロンにおいて、caspase-3,-6,-7以外の caspase を介してアポトーシスを誘導することが示唆された。また、CD47/IAP は BIT/SHPS-1との相互作用によって、その細胞死誘導活性が増強される可能性、さらに、その細胞死が神経栄養因子である BDNF により調節されている可能性を見いだした。このことは CD47/IAP が BIT/SHPS-1や BDNF と協同的に働きニューロンの生と死を制御する機能を有することを意味している。次に、中枢神経細胞の自発的なシナプス伝達における CD47/IAP の機能解析を行った。CD47/IAP を発現させたニューロンにおいて、Ca^{2+}オシレーションの頻度が顕著に上昇していた。この Ca^{2+}オシレーションは AMPA 型グルタミン酸受容体アンタゴニスト CNQX および NMDA 型受容体アンタゴニスト APV 添加により顕著に抑制された。また神経伝達物質放出を阻害する TeTx、および Na^{+}チャネルブロッカー TTX、Ca^{2+}チャネルブロッカー Cd^{2+}添加によっても抑制された。このことは、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸、および AMPA 型受容体、NMDA 型受容体、電位依存性 Ca^{2+}チャネルが、細胞内 Ca^{2+}オシレーションに必要であることを示している。また、CD47/IAP を発現させたニューロンでは、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸放出量が基底状態、高濃度カリウム刺激時で共に上昇していたが、抑制性神経伝達物質である GABA の放出量は、いずれにおいても変化がみられなかった。以上の結果は CD47/IAP が興奮性神経伝達物質の放出量を高めることにより興奮性の神経伝達を増強する可能性を示している。また CD47/IAP を発現させたニューロンでは、phosphatidylinositol 3 kinase の下流で活性化される Akt のセリン残基のリン酸化の亢進がみ

られ、CD47/IAP による神経伝達の増強が Akt を介している可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ラット脳において膜蛋白質 CD47/IAP が神経細胞死の誘導と興奮性神経伝達の増強に関与する可能性を示す研究成果を報告した。本研究成果は、中枢神経系における神経細胞の分化・成熟および機能発現の分子機構の解明に新たな道を拓くものであり、博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。