



Title	マウスセマフォリン4D (M-Sema G)-プレキシシンB細胞内情報伝達系の解析
Author(s)	廣谷, 睦
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43990
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	ひろ 谷 睦 廣 谷 睦
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学位記番号	第 17735 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	マウスセマフォリン 4D (M-Sema G)-プレキシン B 細胞内情報伝達系の解析
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 由良 義明 教授 脇坂 聡 教授 吉田 篤

論文内容の要旨

1. 研究の背景と目的

神経回路は、胎生期に遺伝情報に従って形成される。神経細胞の軸索の先端には成長円錐 (growth cone) と呼ばれるセンサー様の構造があり、これが道標となる分子を認識して伸張方向を決定すると考えられている。これらの道標分子のうちの一つで、神経突起の成長円錐を退縮させ、神経回路形成過程で、軸索伸張を抑制的に制御する神経反発因子としてセマフォリンが同定された。セマフォリンは大きなファミリーを形成しており、約 500 アミノ酸からなる sema 領域を有する。当研究室ではこれらのセマフォリンのうち細胞膜貫通型セマフォリン分子、Sema4C 及び、Sema4D (CD100) をクローニングしたが、最近、Sema4D の受容体として plexin-B 分子が同定された。Plexin は約 2000 アミノ酸の一回膜貫通型タンパクで、大きなファミリーを形成しており、その生理機能や分子機構の詳細は現在まで不明な点が多く残されている。

本研究では、plexin-B ファミリーの細胞内ドメインが、700 アミノ酸の大きさを持つこと、また、細胞内領域に多くの細胞骨格系蛋白質に見られる情報伝達系分子と相互作用することで知られる G-P リポート等の配列を持つことから、何らかの生理的活性を持っていると推測し、plexin-B1 の細胞内領域を bait として成熟ラットライブラリーを Yeast two-hybrid 法を用いて結合蛋白質の検索を行った。その結果、二種類のアクチン細胞骨格系を制御する単量体 GTP 結合タンパク質 Rho のグアニンヌクレオチド交換因子 (Rho-GEF) が得られ、ホモロジー検索の結果、タンパク質の局在に關与する PDZ 領域を有するヒト PDZ-RhoGEF、KIAA0380 および LARG とそれぞれ高い相同性を持っていることが明らかになった。KIAA0380 およびは LARG は、互いに高い相同性を示す分子で、共に N 末端から PDZ 領域、三量体 G 蛋白質の調節因子 (RGS) に類似した LH 領域、Rho のグアニンヌクレオチド交換因子領域とそれに隣接する PH 領域から構成される多機能タンパク質である。そこで、plexin-B1 分子と KIAA0380 および LARG の詳細な結合様式と生理的役割について検討した結果、以下のことを明らかにした。

2. 結果

(1) Plexin-B1 と B1 と相同性の高い plexin-B2 及び、KIAA0380、LARG の C 末端と PDZ 領域をそれぞれ欠損した mutant を作り、plexin-B とこれらの PDZ 領域を有する RhoGEF との結合領域を解析した。その結果、in vivo、in vitro

において plexin-B の C 末端が KIAA0380 および LARG の PDZ 領域と結合していることを明らかにした。また、plexin-B 分子は他の plexin ファミリー分子と異なる C 末端配列を持ち、PSD-95 等の他のタンパク質の PDZ 領域とは結合しなかった。

(2) KIAA0380 および LARG の特異的なポリクローナル抗体を作製し、ウェスタンブロット法を用いて組織分布を検討した結果、plexin-B1 の発現とほぼ一致した。また HEK293 細胞に plexin-B1 と LARG を発現させ、免疫染色法を用いて細胞内局在を検討した結果、LARG 単独では細胞質に局在するが、共発現させた場合 LARG は細胞膜に移行した。

(3) Plexin-B1 と KIAA0380 の結合はリガンド Sema4D に依存せず、また plexin-B1 と KIAA0380 の結合は直接 KIAA0380 の RhoGEF 活性にほとんど影響を及ぼさなかった。

3. おわりに

本研究において、Sema4D の受容体 plexin-B1 分子の C 末端と PDZ 領域を含む低分子量 GTP 結合蛋白質 Rho の GEF、KIAA0380 及び LARG の PDZ 領域が特異的に結合すること、そしてこれらの蛋白質の発現分布がほぼ一致していたことなどから、Sema4D-plexinB1 情報伝達系が Rho を介して生理機能を発揮している可能性が明らかになった。

論文審査の結果の要旨

膜型セマフォリン分子 Sema4D は神経回路形成過程において神経細胞の成長円錐に対する道標分子として知られている分子である。本研究は、膜型セマフォリン分子 Sema4D の受容体である plexin-B1 分子の細胞内情報伝達機構を解析することを目的とした。その結果、plexin-B1 分子の細胞内領域の C 末端にアクチン細胞骨格系を制御する低分子量 G 蛋白質 Rho の GDP/GTP 交換促進因子 (RhoGEF) である PDZ-RhoGEF がその PDZ 領域を介して *in vivo*、*in vitro* において特異的に結合することを明らかにした。本研究の結果は、Sema4D-plexinB1 情報伝達系が Rho を介して生理機能を発揮していることを示唆しており、Sema4D の生理機能解析において重要な知見である。よって本研究は、博士 (歯学) に値するものと認める。