

| | |
|--------------|---|
| Title | Molecular and Cell Biological Studies on Fasciculation and Elongation Proteins Zeta (FEZ) |
| Author(s) | 藤田, 敏次 |
| Citation | 大阪大学, 2004, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45093 |
| 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 | 藤 田 敏 次 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士 (理 学) |
| 学位記番号 | 第 18416 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 16 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 | Molecular and Cell Biological Studies on Fasciculation and Elongation Proteins Zeta (FEZ) (神経軸索誘導関連タンパク質 FEZ に関する分子細胞生物学的研究) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 谷澤 克行 (副査) 教授 永井 克也 教授 岡田 雅人 助教授 黒田 俊一 |

論 文 内 容 の 要 旨

プロテインキナーゼ C ζ (PKC ζ) は、神経細胞において神経成長因子 (NGF) シグナル等により活性化され、分化誘導及びアポトーシス抑制を行う。当研究室では、PKC ζ が関与する神経細胞内シグナル伝達機構の解明を目的として、FEZ1 (Fasciculation and Elongation protein Zeta-1) を PKC ζ 結合タンパク質として単離した (JCB, 144, 403, 1999)。FEZ1 は線虫由来の神経軸索誘導関連タンパク質 UNC-76 と構造的に類似し、線虫 *unc-76* 変異体が表示軸索形成不全を機能相補することから、UNC-76 の哺乳類オルソログであると結論された。さらに、FEZ1 と常活性型変異体 PKC ζ を共発現する PC12 細胞は Neuron 様に分化することから、FEZ1/PKC ζ 複合体が神経軸索形成に重要な役割を担うと考えられた。一方、FEZ1 ホモログとして FEZ2 も同定されているが、その機能については不明である。本研究では、FEZ/PKC ζ が関与する神経軸索誘導機構について調べた。

ラット成体での FEZ の発現についてノーザンブロットで調べたところ、FEZ1 mRNA は脳特異的に、FEZ2 mRNA は脳を含む全組織で発現していた。またマウス胎児では、FEZ1 mRNA は脳神経系の発生開始時期から、FEZ2 mRNA は発生初期から発現していた。次に、脳神経系特異的な FEZ1 に焦点を当て、PC12 細胞をモデルとして FEZ1/PKC ζ が関与する神経軸索誘導機構について調べた。PC12 細胞では、内在性 FEZ1 の発現が NGF 処理により著しく誘導された。また、内在性 FEZ1 は NGF 処理の有無に関係なくミトコンドリアと共局在しており、NGF 処理後には PKC ζ とともに部分的に共局在していた。さらに、PC12 細胞では NGF 処理後 24~72 時間で FEZ1/PKC ζ 複合体が一過性に形成されることが免疫沈降法によって判明した。次に、FEZ1 のミトコンドリア輸送への関与について調べた。プルダウン法により、FEZ1 と KIF5B (ミトコンドリア輸送を担うモータータンパク質) および tubulin (ミトコンドリア輸送のレールタンパク質) の結合が観察された。さらに、PC12 細胞においても NGF 処理後に FEZ1/PKC ζ /KIF5B/tubulin 複合体が形成されることが免疫沈降法によって判明した。また、FEZ1-GFP を安定発現する PC12 細胞では、神経様突起伸長速度がコントロール細胞の約 1.5 倍であった。以上の結果から、PC12 細胞では NGF 処理により FEZ1 の発現が誘導され、NGF 処理後 24~72 時間に形成される FEZ1/PKC ζ /KIF5B/tubulin 複合体が微小管に沿ったミトコンドリア輸送を促すことで、神経様突起先端へのエネルギー供給をサポートし、その結果として神経様突起の伸長が促進されると考えられる。

論文審査の結果の要旨

藤田敏次君は、神経細胞の軸索誘導機構に不可欠な線虫由来 UNC-76 タンパク質の哺乳類オルソログ FEZ1 の分子細胞生物学的研究を行い、FEZ1 が伸長中の神経様突起において、プロテインキナーゼ C と、モータータンパク質 KIF5B、tubulin と一過性に複合体を形成し、ミトコンドリアと共局在することを見出した。これは、今まで機能不明であった FEZ1 が、ミトコンドリアの微小管に沿った神経様突起先端への輸送を促すことで、神経様突起先端へのエネルギー供給をサポートし、その結果として神経様突起の伸長を促進することを強く示唆している。さらに、FEZ1 ホモログ FEZ2 を単離し、各臓器において mRNA が幅広く発現することを明らかにした。また、PC12 細胞において FEZ1 と同様に神経様突起伸長に関与できることを示した。以上から、FEZ2 は非神経系細胞において FEZ1 と同じ機構で、細胞形態変化を制御していると考えられた。本研究の成果は、神経細胞の高次構造形成の根幹をなす軸索誘導の新しい機構の発見であり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。