



Title	Gene Targeting of GAN in Mouse Causes a Toxic Accumulation of Microtubule-Associated Protein 8 and Impaired Retrograde Axonal Transport
Author(s)	Jianqing, Ding
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47327
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	丁 健 青 (Jianqing Ding)
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 20575 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 4 月 24 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	Gene Targeting of GAN in Mouse Causes a Toxic Accumulation of Microtubule-Associated Protein 8 and Impaired Retrograde Axonal Transport (マウスにおける GAN 遺伝子ターゲティングによる微小管関連タンパク質 8 の毒性蓄積と逆行性軸索輸送障害)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 野村 泰伸 (副査) 教 授 村上富士夫 教 授 山本 亘彦

論 文 内 容 の 要 旨

巨大軸索ニューロパシー (GAN) は感覚および運動神経系を破壊する神経障害であり、偏在的に発現する *gigaxonin* タンパク質をコードしている GAN 遺伝子の変異によって引き起こされる。GAN は細胞病理学的な細胞骨格異常によって特徴付けられる。GAN 遺伝子のシーケンシングに基づき、*gigaxonin* は NH₂ 末端の BTB ドメインとそれに引き続く 6 回の *kelch* ドメインの繰り返しから構成され、この構造がタンパク質相互作用にとって重要であると考えられている。本論文は、*gigaxonin* の結合性神経タンパク質に関するものである。まず、Yeast two-hybrid スクリーニングの結果と、共トランスフェクション、および共免疫沈降によって、*Gigaxonin* は主に神経系に発現する微小管関連タンパク質 8 (MAP8) に直接結合することを示した。MAP8 ポリタンパク質は、そのカルボキシル末端の結合サイトに加え、N 末端セグメントに機能的な微小管結合ドメインを持っている。GAN 患者から同定された少なくとも異なる 2 つの遺伝子変異は、*gigaxonin* と MAP8 の相互作用を消失させた。次に、*gigaxonin* の機能の崩壊がどのように神経変性を引き起こすかを理解するために、従来からの遺伝子操作法を用いてマウスの GAN 遺伝子発現を除去した。GAN 遺伝子を除去したマウスにおける進行性神経学的表現型と病理的障害は、ヒトの GAN の特徴を再現した。*Gigaxonin* の崩壊は、ユビキチン-プロテオソーム系の損傷を引き起こし、GAN 遺伝子を除去したマウスにおいて大量の MAP8 の蓄積をもたらした。蓄積した MAP8 は微小管ネットワークを変化させ、不溶性構造の中にダイニンモータータンパク質を捕捉し、GAN 遺伝子を除去したミュータントで発生した過程に対応するような野生型培養神経細胞の神経細胞死を引き起こした。また、*in vitro* 分析によって軸索輸送の欠陥を明らかにした。軸索輸送の欠陥は、GAN 遺伝子を除去した神経細胞に小胞蓄積が見られたことから支持された。これらの結果は、軸索輸送障害は、毒性 MAP8 タンパク質の蓄積が悪化した帰結であることを示している。

論文審査の結果の要旨

巨大軸索ニューロパシー (*GAN*) は感覚および運動神経系を破壊する神経障害であり、偏在的に発現する *gigaxonin* タンパク質をコードしている *GAN* 遺伝子の変異によって引き起こされる。*GAN* は細胞病理学的な細胞骨格異常によって特徴付けられる。*GAN* 遺伝子のシーケンシングに基づいた解析から、*gigaxonin* は NH₂ 末端の BTB ドメインとそれに引き続く 6 回の *kelch* ドメインの繰り返しから構成され、この構造がタンパク質相互作用にとって重要であると考えられている。本論文は、この *gigaxonin* の結合性神経タンパク質に関するものである。まず、Yeast two-hybrid スクリーニングの結果と、共トランスフェクション、および共免疫沈降によって、*gigaxonin* は主に神経系に発現する微小管関連タンパク質 8 (MAP8) に直接結合することを示した。MAP8 ポリタンパク質は、そのカルボキシル末端の結合サイトに加え、N 末端セグメントに機能的な微小管結合ドメインを持っているが、*GAN* 患者から同定された少なくとも異なる 2 つの遺伝子変異は、*gigaxonin* と MAP8 の相互作用を消失させることを明らかにした。次に、*gigaxonin* の機能の崩壊がどのように神経変性を引き起こすかを理解するために、従来からの遺伝子操作法を用いてマウスの *GAN* 遺伝子発現を除去した。*GAN* 遺伝子を除去したマウスにおける進行性神経学的表現型と病理的障害は、ヒトの *GAN* の特徴を再現することを明らかにしている。また、*gigaxonin* の崩壊は、ユビキチン-プロテオソーム系の損傷を引き起こし、*GAN* 遺伝子を除去したマウスにおいて大量の MAP8 の蓄積をもたらすことを示した。さらに、蓄積した MAP8 は微小管ネットワークを変化させ、不溶性構造の中にダイニンモータータンパク質を捕捉し、*GAN* 遺伝子を除去したミュータントで発生した過程に対応するような野生型培養神経細胞の神経細胞死を引き起こすことを示した。その上で、*in vitro* 分析によって軸索輸送の欠陥を明らかにした。軸索輸送の欠陥は、*GAN* 遺伝子を除去した神経細胞に小胞蓄積が見られたことから支持される。これは、軸索輸送障害は、毒性 MAP8 タンパク質の蓄積が悪化した帰結であることを示している。以上の結果は、巨大軸索ニューロパシーの発生機構に新たな知見を与えるものであり、博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。