

Title	Regulatory mechanism of microtubule dynamics in the construction of neural network
Author(s)	長谷川, 明之
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48806
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	はせがわ あきゆき 長谷川 明之
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 21552 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科宇宙地球科学専攻
学位論文名	Regulatory mechanism of microtubule dynamics in the construction of neural network (神経回路網構築における微小管動態の制御機構)
論文審査委員	(主査) 教授 徳永 史生 (副査) 教授 土山 明 教授 中嶋 悟 教授 西田 宏記 准教授 久富 修

論文内容の要旨

生命は原始の海で誕生して以来、地球環境の変化に伴ってその時々環境に適応したものが生き残り進化してきた。10 億年前に細胞同士が寄り集い機能を割り振って統一したシステムを持つ多細胞生物が出現し、身体を統一的に動かす外界の情報を処理するように情報を他の細胞に伝える神経系が形成されていった。生命は様々な身体の形態等の変遷を経て、光刺激（視覚）、空気振動（聴覚）など様々な情報を処理するようになり、神経系は複雑で高度な機能を持つように発達していった。すなわち現存の多細胞生物に備わる高い行動力、外界認識や自己統制などは単なる細胞の集合体としての多細胞化では成り立つものではなく、神経組織の構築が必要不可欠といえる。神経細胞の基本的な機能は活動電位を生み出し、他の細胞に信号を伝達することである。個々の神経細胞は突起を伸ばし他の細胞との間にシナプスを作り出して結合するという形態変化を経ていき、それらの集合として神経回路網が形成されていく。生物を構成する重要な要素であるタンパク質は様々な生体の形態や機能などを司ることから、分子生物学的手法を用いて個々のタンパク質の働きを解析することで神経回路網の形成が還元論的に解明されてきている。しかしながらその形成メカニズムについては未だ不明な部分が多い。そこで有尾両生類の組織再生能力を利用し、神経組織である網膜の再生現象を対象として、その神経回路網が構築される過程に働くタンパク質の分布と機能を調べた。

正常網膜と再生中の網膜で活性化されている遺伝子の比較

網膜は外界の明るさ、色といった光情報を電気刺激として伝達する機能、視覚を司る神経組織である。有尾両生類の一種であるイモリは網膜を損傷しても、眼球内の非神経細胞（色素上皮）が網膜前駆細胞になって増殖し、新たな網膜を形成して複雑な神経回路網を復元する。この再生過程（再生網膜）において働く遺伝子と成体の網膜（正常網膜）において働く遺伝子を網羅的に解析して比較したところ、網膜機能に関与する遺伝子は再生網膜ではみられなかった。一方再生網膜ではタンパク質合成・分解、そして細胞骨格系遺伝子が強く活性化されていることが示された。また再生網膜から得られた遺伝子をいくつか選んで詳細に解析したところ、実際に再生網膜でより強く活性化されていることも示された。そこでこの中から、細胞骨格の一種である微小管に関与するタンパク質であるスタスミンに注目し、解析を行った。

微小管崩壊因子スタスミンの解析

個々の神経細胞が突起を伸ばすことが神経回路形成において必要であるが、この神経突起伸展には細胞骨格の一種である微小管の振る舞いが重要である。微小管は2種のチューブリンタンパク質分子 (α チューブリンと β チューブリン) からなるヘテロダイマーから構成されるタンパク質の管で、神経突起の伸展には微小管の重合と崩壊を繰り返す動的不安定性と呼ばれる微小管動態が重要である。スタスミンは2組のチューブリンヘテロダイマーと結合する能力を持ち、形成された微小管を不安定化させる崩壊因子である。神経組織と回路網の形成過程におけるスタスミンの役割を調べるため、再生過程におけるスタスミン遺伝子の発現量変化を観察したところ、再生初期から神経回路網が形成される段階まで増加していくことが示された。また、免疫組織化学染色によるタンパク質の分布についても解析を行ったところ、正常網膜ではシナプス層や神経繊維などの多くの領域においてチューブリンと共局在していることが示された。再生過程では網膜前駆細胞で構成される再生網膜全体で発現が見られ、各種細胞に分化していくにつれて網状層などに収束していき、正常網膜と同じパターンを示すようになった。また分裂中の細胞においてはスタスミンとチューブリンの共局在が観察された。これらのことから、スタスミンは色素上皮細胞の脱分化および網膜神経回路網の構築と維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

長谷川明之君提出の博士論文「神経回路網構築における微小管動態の制御機構 (Regulatory mechanism of microtubule dynamics in the construction of neural network) は有尾両生類の組織再生能力を利用し、神経組織である網膜の再生現象を対象として、その神経回路網が構築される過程に働くタンパク質の分布と機能を調べたものである。

まず、正常網膜と再生中の網膜で活性化されている遺伝子の比較を行った。

有尾両生類の一種であるイモリは網膜を損傷しても、眼球内の非神経組織 (色素上皮) の一部の細胞が固有の性質を失って増殖し、新たに網膜を形成して複雑な神経回路網を復元する。このようにイモリ網膜の再生は神経の構築と再生を調べるのに非常に有用なモデルであることから、この再生過程 (再生網膜) において働く遺伝子と成体の網膜 (正常網膜) において働く遺伝子を網羅的に解析、比較した。その結果神経網膜に特異的に見られるものは再生中の網膜では見られず、一方再生網膜では正常網膜よりもタンパク質合成やタンパク質分解に関与するもの、そして細胞骨格に関連した遺伝子が強く活性化されていることが示された。また再生網膜から得られた複数の遺伝子の活性を解析し、それらが実際に再生網膜でより強く活性化されていることも示された。そこでこの中から、細胞骨格の一種である微小管に関連するタンパク質である微小管崩壊因子スタスミンに注目し、更に解析を行った。

神経回路形成においては個々の神経細胞が突起を伸ばし、結合を作ることが必要であるが、この神経突起伸展には細胞骨格の一種である微小管の振る舞いが重要である。微小管は2種のチューブリンタンパク質分子 (α チューブリンと β チューブリン) からなるヘテロダイマーを基本単位として構成されるタンパク質の管で、神経突起の伸展には微小管の重合と崩壊を繰り返す動的不安定性と呼ばれる微小管動態が重要である。スタスミンは2組のチューブリンヘテロダイマーと結合する能力を持ち、形成された微小管を不安定化させる崩壊因子である。過去、網膜におけるスタスミンの研究はラット発生時の mRNA の発現変化や成体網膜でのタンパク質の局在などがあるのだが、網膜が形成される際のタンパク質の局在などは報告されておらず、また再生に関する研究はなされていない。そこで神経組織と回路網の形成過程におけるスタスミンの役割を調べることにした。再生過程におけるスタスミン遺伝子の発現量変化を観察したところ、再生初期から神経回路網が形成される段階まで増加していくことが示された。また、免疫組織化学染色によりタンパク質の分布についても解析を行ったところ、正常網膜ではシナプス層や神経繊維などの多くの領域においてチューブリンと共局在していることが示された。再生過程では網膜前駆細胞で構成される再生網膜全体で発現が見られ、各種細胞に分化していくにつれて網状層などに収束していき、正常網膜と同じパターンを示すようになった。また分裂中の細胞においてはスタスミンとチューブリンの共局在が観察された。以上のようにこの長谷川君の研究結果は、最近盛んになっている再生医療、特に網膜再生医療に多大な貢献をする可能性がある。また神経回路網構築機構の研究にも貢献する。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。