



Title	Sigma-1 Receptor Enhances Neurite Elongation of Cerebellar Granule Neurons via TrkB Signaling
Author(s)	木村, 百合子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53926
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	木村 百合子
論文題名 Title	Sigma-1 Receptor Enhances Neurite Elongation of Cerebellar Granule Neurons via TrkB Signaling (シグマ1受容体はTrkBシグナルを介して小脳顆粒神経細胞の突起伸長を促進させる)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 Sigma-1受容体(Sig-1R)は小胞体膜に発現するリガンド作動性の受容体シャペロンである。Sig-1Rは脳に最も豊富に発現し、既存の精神治療薬を含む多くの合成薬と結合することから、中枢神経疾患の治療薬の新たな標的として着目されている分子の一つである。しかし活性化Sig-1Rは強力な神経保護作用と神経突起伸長作用が知られているが、その詳細な機序は未だ多くが不明である。本研究ではSig-1Rによる軸索伸長作用の因子としてニューロトロフィン受容体 Tropomyosin receptor kinase B (TrkB)に着目し、Sig-1Rとの相互作用について検討した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 Trkファミリーの中でもTrkBの発現が最も高い事で知られている野生型マウスの小脳顆粒細胞において、Sig-1RとTrkBが共局在している事を免疫蛍光染色により確認した。その後小脳顆粒細胞の初代培養にSig-1R特異的な作動薬であるPRE-084を添加し、神経細胞マーカーであるTuj1抗体により免疫蛍光染色後、神経突起伸長を計測した。PRE-084を培地に添加した細胞ではコントロールと比べて軸索伸長の促進が認められ、またその効果はSig-1R特異的な拮抗薬であるBD1063の同時添加により阻害された。そこで同初代培養系において、TrkBのリガンドであるbrain-derived neurotrophic factor (BDNF)の添加有り、無しの条件でTrkの阻害剤であるK252aを添加し、Trkの活性を抑制させた。更にPRE-084を添加して各々の条件における軸索伸長作用を検討した。その結果、培養中のBDNFの有無に関わらず、K252aの存在下ではPRE-084による軸索伸長作用は認められなかった。また、K252a単独添加では神経突起の長さに変化はなかったことから、PRE-084による神経突起伸長作用はBDNFの有無に関わらずTrkの活性を介していることが示唆された。 次にSig-1RとTrkBの詳細な相互作用を検証した。HEK293T細胞にタグ標識したSig-1RとTrkBの発現ベクターを遺伝子導入し、免疫沈降法及びウエスタンブロット法を用いて検討したところ、両者の結合が確認された。また、小脳顆粒細胞に発現する内在性Sig-1RとTrkBにおいても同様に結合が認められた。更にBDNF存在下におけるTrkBの自己リン酸化作用をPRE-084存在下、非存在下で比較したところ、PRE-084存在下においてTrkBの515番目のチロシン残基のリン酸化が顕著に上昇していたが706番目のチロシン残基のリン酸化状態に変化は認められなかった。そこでTrkBの515番目のリン酸化が必要かを検証する為に、515番目のチロシンをフェニルアラニンに置換したTrkB優性阻害変異体を小脳顆粒細胞に強制発現したところ、PRE-084による軸索伸長効果は認められなかった。以上の結果よりPRE-084により活性化されたSig-1RはTrkBの515番目のチロシンのリン酸化を増強して、軸索伸長作用を促進していることが示された。 〔総括(Conclusion)〕 小脳顆粒細胞においてSig-1Rが活性化されるとBDNFの有無に関わらずTrkBのシグナルを介して神経突起伸長を促す事が示唆された。また、BDNF存在下では、TrkBの特定のチロシン残基のリン酸化状態を上昇させていることが明らかになった。本研究によりこれまで明らかにされていなかったSig-1Rの新たな分子機序が示されるのと同時に、今後Sig-1Rの作用を介した新規治療法の開発に繋がることが期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 木村 百合子			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	山下 俊英
	副 査	大阪大学教授	島 田 昌一
	副 査	大阪大学教授	金 井 好 克

論文審査の結果の要旨

上記学生は脳で高発現を示すことが知られているSigma-1 receptor (Sig-1R)に着目し、Sig1Rが関与する神経保護作用・軸索伸長作用の分子機序を解明すべく研究を行ってきた。学位申請論文においてSig-1Rは、神経保護・分化・成長に作用することが知られているニューロトロフィン受容体 Tropomyosin receptor kinase B (TrkB)の働きを増強させることにより、軸索伸長を促していることを示す研究結果について報告した。具体的には、通常小胞体膜上に局在を示すSig-1Rが細胞膜のTrkBと結合し、TrkBのリガンド存在下におけるTrkB自己リン酸化作用を増強することで軸索伸長を促すことを明らかにした。Sig-1Rは既存の精神治療薬を含む多くの合成薬と結合することから、本研究結果は中枢神経疾患の画期的な治療法の開発へと繋がる可能性を示す非常に優れたものである。また上記学生はPloS One誌に掲載された学位申請論文だけでなく、Sig-1Rの分子機序に関する優れた総説も執筆してReceptors & Clinical Investigation誌に掲載されるなど、非常に目覚ましい研究実績を数多く挙げている。これらは博士（医学）の学位授与に値する研究成果である。