



Title	Glucocorticoid Suppresses Dendritic Spine Development Mediated by Down-Regulation of Caldesmon Expression
Author(s)	田之頭, 大輔
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59826">https://hdl.handle.net/11094/59826</a>
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</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	たのかしら だいすけ 田之頭 大 輔
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25874 号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体生理医学専攻
学位論文名	Glucocorticoid Suppresses Dendritic Spine Development Mediated by Down-Regulation of Galdesmon Expression (グルココルチコイドはカルデスモンの発現を低下させることでスパインの発達を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 山下 俊英 (副査) 教授 菊地 章 教授 島田 昌一

## 論文内容の要旨

## 〔目的 (Purpose)〕

ストレスホルモンであるグルココルチコイドは、神経細胞が持つ可塑的な構造に影響を与える。例えば、神経細胞の樹状突起数の減少やスパインの縮小などである。しかしながら、ストレスとグルココルチコイドによるこれらの影響についての分子メカニズムはまだはっきりとわかっていない。カルデスモンはアクチン-ミオシン系を制御するタンパク質として知られている。またグルココルチコイドによりその発現レベルは影響を受ける。我々は、新皮質の形成時にはアクチン-ミオシン系を制御することにより神経前駆細胞の移動を負に制御することをこれまで明らかにした。これらの知見を元にスパインに与えるカルデスモンの影響について解析することを目的とした。

## 〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕

培養したラットの海馬神経細胞でカルデスモンの局在を免疫染色により、調べたところ、カルデスモンはスパイン内部でF-アクチンと共局在していた。神経細胞の成熟に伴う発現量変化をウエスタンブロットにより調べたところ、スパインが成熟するにつれ発現量は上昇していた。神経細胞に、カルデスモンを過剰発現させると、肥大化した成熟型のスパインの割合が増加した。一方、miRNAによる、カルデスモンの発現抑制を行うと、未成熟なスパインの割合が増加した。さらに、FRAP、LifeActを用いたアクチンダイナミクスの解析を行ったところ、カルデスモンはスパイン内におけるF-アクチンのダイナミクスを安定化させており、その結果としてスパインサイズを肥大化させていることが明らかになった。F-アクチンを切断する活性を持つコフィリンを強制発現させるとスパインサイズは縮小することが知られているが、カルデスモンと共発現させると、コフィリンによるこの表現型は見られなくなった。この結果はカルデスモンがF-アクチンをコフィリンによる切断から保護することで安定化させていると考えられる。次に神経

細胞をpicrotoxin、forskolin、rolipramにより刺激することで、シナプスの伝達効率の長期増強を誘導し、スパインを肥大化させると、肥大化したスパインにはカルデスモンの集積が認められた。この長期増強という現象ではスパイン内のF-アクチンが安定化することが知られているが、あらかじめ、カルデスモンの発現抑制を行っておくと、このようなF-アクチンの安定化は見られなくなった。コルチコステロンを投与した神経細胞では、SRF依存性のカルデスモン遺伝子の転写が抑制され、そのタンパク質レベルでの発現も顕著に低下した。またスパインサイズも縮小し、F-アクチンも不安定な状態になっていた。スパイン成熟に対するコルチコステロンのネガティブ効果はカルデスモンを過剰発現することにより打ち消された。

## 〔総括 (Conclusion)〕

カルデスモンはスパイン内に局在し、F-アクチンを安定化させることによりサイズを拡大させる。グルココルチコイドによりその発現量は低下し、同時にスパインサイズも縮小する。従ってカルデスモンの発現変化がストレス環境下で引き起こされるスパイン成熟阻害の要因であることが示された。

## 論文審査の結果の要旨

神経細胞のもつ興奮性シナプスを構成するスパインという構造は、神経細胞の成熟に伴いその形態を様々なに変化させる。スパインの形態や密度は神経機能の構造的基盤として非常に重要であると考えられている。そしてスパインの形態、機能、ダイナミクスはアクチンにより制御されていることが知られている。

ストレスホルモンであるコルチコステロンに曝されると神経細胞のスパイン数の減少やスパインの縮小などが起こることが知られているが、その分子メカニズムはまだはっきりとわかっていない。

今回の研究により、網羅的なスクリーニングからグルココルチコイド依存的に発現量が低下するタンパク質であるカルデスモンが見出された。カルデスモンはスパイン内に局在し、F-アクチンを安定化させることによりサイズを拡大させる機能を持つ。従ってカルデスモンの発現変化がストレス環境下で引き起こされるスパイン成熟阻害の要因であることが示された。

今回の研究結果は学位の授与に値すると考えられる。