

論文内容の要旨

申請者氏名 勝野 弘子

神経細胞は、軸索や樹状突起を伸ばすことによって脳内に回路網を形成する。軸索を構成する分子は主に細胞体で合成され、軸索輸送によって軸索の先端に輸送されるため、軸索輸送は神経回路網の形成・維持に必要不可欠である。軸索輸送は、その輸送速度により Fast component、Slow component a、Slow component b の3つに分類されており、先行研究によって Fast component と Slow component a はキネシンやダイニンなどのモータータンパク質によって運ばれることがわかっている。一方、Slow component b は、アクチンやアクチン結合タンパク質を輸送するが、その分子機能は長らく不明である。申請者は、Slow component b の輸送様式のひとつであると考えられている Actin wave と呼ばれるアクチン線維の富んだ構造体に着目し、その輸送機構の解析を行った。

申請者はまず初めに、細胞内1分子計測法を交えて、Actin wave 内におけるアクチンの局在と動態を解析した。その結果、Actin wave 内にはアクチン線維が濃縮しており、進行方向に向いた重合と後方での脱重合を繰り返すことがわかった。また、Actin wave 内のアクチン線維は、クラッチ分子 Shootin1 と細胞接着タンパク質 L1-CAM を介して細胞外基質と連結していた。そこで申請者は、Actin wave が、クラッチ分子 Shootin1 と細胞接着タンパク質 L1-CAM を介して細胞外基質に連結したアクチン線維が方向性を持った重合と脱重合をすることで移動するという仮説を立て、その検証を行った。

この仮説を検証するために、まず、アクチン線維の重合を阻害または促進した場合の Actin wave の移動速度を調べた。その結果、その移動速度はアクチン線維の重合速度に依存することがわかった。次に、Actin wave の移動と細胞外基質への連結との関係を検証した。その結果、Actin wave の移動は基質依存的であり、アクチン線維と細胞外基質との連結を弱めると、アクチン線維にスリップが生じ、Actin wave 自体の移動が遅くなることがわかった。また、Actin wave がクラッチシステムによって移動するのであれば、細胞外基質には前進する Actin wave とは反対向きの力がかかるはずである。そこで、Actin wave の移動時に基質に生じる力の検出・解析を行った。その結果、Actin wave が移動方向とは反対向きの力を細胞外基質にかけながら前進することがわかった。さらに、蛍光タンパク質を用いたイメージングにより、Actin wave はアクチンだけでなく、アクチン結合タンパク質も輸送することがわかった。また、培養脳切片を用いた実験結果より、Actin wave は脳組織においても発生することが確認された。

以上の結果により、Slow component b の輸送機構のひとつと考えられる Actin wave が、アクチン線維の方向性を持った重合・脱重合とその基質への連結を基盤として輸送されることが示唆された。Actin wave は、最近、神経細胞以外の様々な細胞でも報告がなされており、申請者の研究によって、従来知られているモータータンパク質を介した仕組みとは異なる新しい細胞内分子輸送機構が明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 勝野 弘子

神経細胞は軸索を伸長し、神経回路網を形成する。軸索伸長に必要なタンパク質や膜分子は主に細胞体で合成され、突起先端へと輸送される。軸索内の分子輸送はその速度に応じて Fast component、Slow component a、Slow component b の3つに分類されており、Fast component と Slow component a はモータータンパク質によって輸送されることがわかっている。しかし、Slow component b の輸送機構は、その発見から35年以上経っても不明であった。申請者は、本研究で、Slow component b の輸送機構のひとつであると考えられている Actin wave と呼ばれるアクチン線維の富んだ構造体に着目し、その移動機構を解明した。

これまでに、Slow component b に分類されるアクチンやアクチン結合タンパク質に関しては、モータータンパク質によって輸送されるという確認はされていない。そこで、申請者は、種々の顕微鏡技術と申請者らが新たに開発した実験手法により、神経軸索内を移動する Actin wave の移動機構の解明を行った。まず初めに、細胞内一分子計測法により、Actin wave を高解像度でライブイメージングすると、アクチンが進行方向を向いた重合と後方での脱重合を繰り返しながら進んでいる様子が観察された。さらに、Actin wave にはクラッチ分子 Shootin1 が局在していたことから、Actin wave はクラッチシステムによってアクチン線維が細胞外基質に連結され、連結されたアクチン線維が重合することにより、Actin wave が移動すると考えた。実際に、クラッチを弱めるような処理を行うと、Actin wave 内のアクチン線維にスリップが生じ、Actin wave 自体の移動速度も遅くなったことから、Actin wave はアクチンの重合・脱重合とクラッチによる細胞外基質への連結により移動することがわかった。また、Traction force microscopy 法により、Actin wave が移動する際に細胞外基質に生じる反作用力の検出・解析を行い、Actin wave がクラッチシステムによって移動することがより確かになった。さらに、申請者等が開発したレーザーを用いて Actin wave の基質依存性を検証する実験により、Actin wave は基質依存的に移動することがわかった。さらに、脳内においても神経軸索内を Actin wave が移動することがわかった。

本研究から、Slow component b の輸送機構のひとつと考えられる Actin wave が、アクチン線維の重合・脱重合と、クラッチシステムによる細胞外基質への連結により移動することが明らかになった。これは、軸索に存在する微小管上を移動するモータータンパク質による輸送機構とは異なる機構である。また、Actin wave は神経細胞以外の細胞でも報告されており、本研究の持つ学術的意義は大きいと考えられる。

以上のように、本論文は細胞内分子輸送機構について新たな知見を示すもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。