

バイオサイエンス研究科 博士論文要旨

所 属 (主指導教官)	バイオサイエンス研究科・細胞生物学専攻・細胞内情報学講座 貝淵 弘三		
氏 名	千原 一泰	提 出	平成11年 1月 7日
題 目	Mechanisms underlying the Rho family GTPase-mediated neuronal network formation. (低分子量G蛋白質Rho family による神経回路網形成機構)		
<p>要旨</p> <p>The Rho family small GTPases are thought to regulate cytoskeletal organization of various types of cells. We previously identified Rho-associated protein kinase (Rho-kinase) as a specific target of Rho, and found that Rho-kinase elevates the phosphorylation level of myosin light chain (MLC) of myosin II, thereby regulating the formation of stress fibers and focal adhesions. Here, I examined whether Rho-kinase regulates growth cone morphology and axon guidance via the regulation of cytoskeletal rearrangements in neuronal cells. I showed that the expression of constitutively active forms of Rho-kinase induced neurite retraction of N1E-115 cells, whereas the expression of dominant negative forms of Rho-kinase inhibited the lysophosphatidic acid (LPA)-induced neurite retraction of N1E-115 cells. The expression of mutant MLC^{T18D, S19D} (substitution of Thr and Ser to Asp), which is known to lead to the activation of myosin II when reconstituted with myosin heavy chain <i>in vitro</i>, also promoted neurite retraction. I further identified collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2) which is thought to be essential for collapsin-induced</p>			

growth cone collapse as a novel Rho-kinase substrate. Rho-kinase phosphorylates CRMP-2 at Thr-555 *in vitro*. I produced here an antibody recognizes CRMP-2 phosphorylated at Thr-555. By use of this antibody, I found that CRMP-2 is phosphorylated by Rho-kinase downstream of Rho *in vivo*. These results raised the possibility that Rho-kinase regulates the morphology of growth cone and axon guidance by phosphorylating MLC and CRMP-2.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 千原 一泰

1 2 0 0 字程度でA4用紙 1 枚に書く。

本論文は低分子量G蛋白質Rhoによる神経突起の退縮の作用機構を分子レベルで明らかにし、さらにRho-Rho-kinaseのシグナル伝達系が神経回路網の形成に関与することを示唆したものである。本論文の主要な成果は以下に要約される。

- (1) 活性化した低分子量G蛋白質RhoやRhoを活性化するlysophosphatidic acidによる神経突起の退縮にRho-kinaseが関与することを示した。
- (2) 活性化したRhoが引き起こす神経突起の退縮にRho-kinaseによるmyosin light chain (MLC)のリン酸化レベルの上昇が関与することを示した。
- (3) 脳組織からRho-kinaseの新たな基質標的蛋白質として、神経回路網の形成に関与する分子として考えられているCollapsin response mediator protein-2(CRMP-2)を同定した。
- (4) *in vitro*において、Rho-kinaseがCRMP-2の555番目のスレオニンをリン酸化することを示した。さらに、このリン酸化部位が実際に細胞内でRho-kinaseによりリン酸化を受けることを証明した。

以上のように、本論文は、低分子量G蛋白質Rhoによる神経突起の退縮にRho-kinaseによるMLCのリン酸化レベルの上昇が関与していることを明らかにし、さらに、Rho-kinaseの新たな基質標的蛋白質としてCRMP-2を同定した。CRMP-2は神経細胞の成長円錐を退縮させる細胞内情報伝達に関与することが報告されており、本研究によりRho-kinaseがCRMP-2をリン酸化することにより成長円錐などの神経細胞の形態を調節したり神経回路網の形成に関与する可能性が示唆された。

本論文は低分子量G蛋白質Rhoの神経細胞における生理機能を明らかにするのみならず、神経回路網の形成機構の分子メカニズムを理解する上でも重要な意義を持つ。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。