

氏 名	ふな 船 津 のぶ お 雄
学位(専攻分野)	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 甲 第 205 号
学位授与の日付	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 機能科学専攻
学位論文題目	脳組織のTriton不溶性低比重性画分（ラフト）に存在する機能タンパク質の解析
審 査 委 員	(主査) 教 授 宗 川 吉 汪 教 授 清 原 壽 一 教 授 伊 倉 宏 司 神 戸 大 学 前 川 昌 平 大学院教授

論 文 内 容 の 要 旨

申請論文は、第一章「序論」、第二章「材料と方法」、第三章「結果」、第四章「考察」から構成されている。

まず、「序論」では本論文の目的が述べられている。本研究は、脳神経系における細胞間の情報伝達と細胞内への情報変換に関わるラフトの機能を明らかにすることを目的とし、哺乳類脳組織のラフトに局在する機能タンパク質が解析された。ラフト (raft) とは細胞膜上の微小領域で、スフィンゴ脂質やコレステロールとともにグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型タンパク質、非受容体型チロシンキナーゼ、三量体型Gタンパク質などの情報伝達に関与する様々な分子が局在し、細胞膜成分の輸送や細胞の情報伝達に機能すると考えられている。GPIアンカー型細胞接着分子は、細胞間情報伝達において様々な情報伝達分子と協調し、細胞骨格系の再構築を介して、脳組織の高次構造の形成、神経情報伝達、神経可塑性などの高次機能に関わる可能性が高い。ラフトは、Triton X-100に不溶性で低比重性の膜画分として生化学的に調製される。

本論文の第三章「結果」は第一部、第二部、第三部から構成されている。各部の「結果」と「考察」の要旨を以下に記す。

第一部では、ラット脳組織のラフトに局在する機能タンパク質の同定について述べられている。2週齢ラット脳組織のラフトに存在するGPIアンカー型細胞接着分子として免疫グロブリンスーパーファミリーのF3/contactin、NCAM-120、Thy-1、OBCAM、カドヘリンスーパーファミリーのT-cadherinが同定された。そして同時に、見かけの分子質量が36kDaの未同定分子が見い出された。

第二部で、上記の36kDa未同定分子の構造解析と機能解析が行われている。その結果、この分子は482個のアミノ酸残基からなり、アミノ末端側に分泌シグナルを、カルボキシル末端側にGPIアンカー付加シグナルを持ち、3つの免疫グロブリン様C2領域を有する新規のGPIアンカー型タンパク質であることが判明した。このタンパク質は、アミノ酸配列がIgLONファミリーに属する分子と相同性が高いことからキロン (Kilon; kindred of IgLON) と命名された。キロンは脳組織において見かけの分子質量46kDaを示し、その発現は胚発生16日から認められ、生後急激に増加した。9週齢ラット脳を用いた免疫組織化学的解析より、キロンの陽性反応が大脳皮質の錐体細胞、海馬の錐体細胞、プルキンエ細胞の細胞体と樹状突起上に認められた。4週齢ラット脳を用いた免疫電子顕微鏡解析からは、シナプス領域のシナプス後膜肥厚部においてキロン陽性反応が特に顕著に認められた。また、キロン発現細胞の凝集実験からキロンが細胞接着能を持つことが明らかになった。さらに、細胞膜画分を材料に化学架橋剤を用いた解析からキロンがキ

ロンまたはOBCAMとシス型の相互作用を行っている可能性が示された。神経細胞膜のラフトに局在するキロンはシナプス形成と維持に重要な役割を持つと考えられる。

第三部では、ラフトの細胞骨格制御への関与が解析されている。新生児ウシ全脳より調製したラフト中にアクチン重合促進活性が見い出され、その活性を担う主要因子としてゲルソリン (Gelsolin) が同定された。ラフト中のゲルソリンは他の情報伝達分子と相互作用し細胞膜直下のアクチン繊維の重合調節を行っている と推論された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、脳神経系における情報の伝達と変換に関与すると考えられている細胞膜上の微小領域であるラフトの機能を明らかにすることを目的としている。そのためにまず、ラット脳組織のラフトに局在するGPIアンカー型細胞接着分子が検索された。既知の分子種と同時に36kDaの未同定分子が見い出され、クローニングと構造解析の結果、新規のGPIアンカー型タンパク質であることが判明し、キロンと命名された。キロンは482個のアミノ酸からなり、アミノ末端側に分泌シグナルを、カルボキシル末端側にGPIアンカー付加シグナルを持ち、3つの免疫グロブリン様C2領域を有し、細胞接着能を持つ。キロンは大脳皮質および海馬の錐体細胞、プルキンエ細胞の細胞体と樹状突起上に認められ、シナプス領域のシナプス後膜肥厚部に局在した。キロンの発現はラットの胚発生16日から認められ、生後急激に増加した。神経細胞膜のラフトに局在するキロンはシナプス形成と維持に重要な役割を持つと考えられる。さらに、ラフトの細胞骨格制御への関与が解析され、新生児ウシ全脳より調製したラフト中にアクチン重合促進活性を担う主要因子としてゲルソリン (Gelsolin) が同定された。ラフト中のゲルソリンは他の情報伝達分子と相互作用し、細胞膜直下のアクチン繊維の重合調節を行っている と推論された。

以上の結果は、神経細胞膜におけるラフトの機能解明において重要な示唆を与えるものである。本研究は、神経細胞のシナプスの形成・維持機構の解明に大いに寄与するものと評価された。とりわけ新規GPIアンカータンパク質キロンの発見は高く評価された。論文は慎重かつ丁寧に作成されており、論旨は極めて明解であった。本論文の内容は申請者を筆頭著者とする以下の2編の論文を基礎としている。なお、この他に申請者を著者とする1編の論文が公表されている。

1. Funatsu, N., Miyata, S., Kumanogoh, H., Shigeta, M., Hamada, K., Endo, Y., Sokawa, Y., and Maekawa, S. : Characterization of a novel rat brain glycosylphosphatidylinositol-anchored protein (Kilon), a member of the IgLON cell adhesion molecule family.
「The Journal of Biological Chemistry」誌 274巻 8224頁 - 8230頁 (1999年)
2. Funatsu, N., Kumanogoh, H., Sokawa, Y., and Maekawa, S. : Identification of gelsolin as an actin regulatory component in a Triton insoluble low density fraction (raft) of newborn bovine brain.
「Neuroscience Research」誌に印刷中

(参考論文)

1. Maekawa, S., Kumanogoh, H., Funatsu, N., Takei, N., Inoue, K., Endo, Y., Hamada, K., and Sokawa, Y. : Identification of NAP-22 and GAP-43 (neuromodulin) as major protein components in a Triton insoluble low density fraction of rat brain.
「Biochimica Biophysica Acta」誌 1323巻 1頁 - 5頁 (1997年)