

# 主 論 文 要 旨

報告番号	①乙 第	号	氏 名	本間 耕平
主 論 文 題 目： 神経突起伸展と退縮時における細胞内カルシウムシグナルによる アクチン細胞骨格制御に関する研究				
(内容の要旨)				
<p>細胞内カルシウムは、様々な生理過程に関わっていることが知られており、そのシグナル伝達経路は多岐にわたる。神経発生時における神経突起伸展にもカルシウムは関わっており、刺激や細胞の種類の違いによって、神経突起の伸展を促進するシグナルや逆に退縮させるシグナルにもなり得る。しかし、細胞内カルシウムに対して逆の応答が生じるメカニズムについては未だ明らかではない。本論文では、神経細胞の突起伸展の研究に有用なモデル細胞である PC12 細胞を用いて、細胞内カルシウムを動員する神経伝達物質であるセロトニン (5-HT) とアデノシン 3 リン酸 (ATP) の刺激による長期的な神経突起伸展促進と短期的な退縮について調べ、これに関わる細胞内カルシウムに依存するシグナル伝達経路について議論した。</p> <p>第 1 章は緒言で、神経伝達物質の役割と神経伝達物質が引き起こす細胞内カルシウムシグナルについて従来の研究をまとめ、本研究の背景を説明した。</p> <p>第 2 章では、蛍光による細胞内分子動態測定法として本研究で用いた、蛍光指示薬による細胞内イオン濃度測定、蛍光タンパク質を用いたタンパク質動態解析、蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) を利用したタンパク質 - タンパク質の相互作用解析法について説明した。</p> <p>第 3 章では、5-HT の細胞内カルシウム動員による神経突起伸展促進効果について議論した。5-HT による細胞内カルシウム動員は、NGF による分化誘導により増大するが、この細胞内カルシウム動員は、イオンチャンネル型受容体であるセロトニン 3 型受容体の活性化によって膜電位が脱分極し、細胞膜上の電位依存性カルシウムチャンネルが開くことによって起こることを、カルシウムイメージングを用いて薬理的に示した。また、5-HT による NGF 神経突起伸展の促進は、先に示したセロトニン 3 型受容体、電位依存性カルシウムチャンネルを介した細胞内カルシウム動員に依存すること、さらにカルシウムシグナルの下流にあるカルモジュリンとカルシニューリンが神経突起伸展促進効果に関わっていることを示した。</p> <p>第 4 章では、ATP 刺激に伴う細胞内カルシウム動員によるアクチン細胞骨格制御について議論した。ATP は P2X 受容体と P2Y 受容体によって細胞内カルシウム動員を引き起こす。そこで ATP が P2X 受容体を介した細胞内カルシウム動員によって、アクチン結合タンパク質であるコフィリンを活性化し、コフィリン - アクチンの結合を促進することをカルシウムイメージングと Cofilin-Venus の蛍光タンパク質動態解析によって明らかにした。また、Cofilin-Venus と Cerulean-actin の共発現によるコフィリンとアクチンの同時可視化からアクチン細胞骨格の再編成が起こることを示し、コフィリン - アクチンの結合の度合を FRET によって見積ることに成功した。また、コフィリン - アクチンの結合促進には、カルモジュリンとカルシニューリンが関与していることを薬理的解析から明らかにした。</p> <p>第 5 章では本研究を総括し、細胞内カルシウムシグナルの神経突起の伸展・退縮に至る細胞骨格制御について議論した。</p>				
				以上