

審査の結果の要旨

氏名 臼井 洋

本研究は神経回路形成、血管形成などで重要な役割を演じていると考えられるセマフォリンの受容体プレキシンについて、酵母のツーハイブリッド法にてプレキシンA1の細胞内領域と結合するシグナル分子を同定しセマフォリンの下流のシグナル機構の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 酵母のツーハイブリッド法および哺乳動物細胞の発現系における免疫沈降法により、プレキシンA1と同じファミリーの分子であるプレキシンB1がプレキシンA1と細胞内領域で結合することを見出した。プレキシンAにはA1～A4の4種類が報告されているが、プレキシンA2・A3ともプレキシンB1とは結合しなかった。また、プレキシンA1のC末端の20アミノ酸がプレキシンB1との結合に必須であった。
2. マウスのプレキシンB1のcDNAをクローニングし、全長の塩基配列を決定した。
3. ノーザンブロット法により、マウス成体におけるプレキシンA1およびプレキシンB1の発現パターンを解析した。両者とも広範囲の臓器で発現が認められ、その分布は必ずしも一致はしなかったが、主として脳で両者のmRNAの強い発現が認められた。
4. 大腸菌で発現させたGST融合活性型Rac1により、HEK293で発現させたプレキシンA1およびプレキシンB1をpull-downした結果、プレキシンA1が存在するとプレキシンB1と活性型Rac1との結合が2～3倍に増強することが示された。
5. プレキシンA1およびプレキシンB1の細胞外領域を欠損させた活性型変異体をCOS7細胞で発現させ、COS7細胞の面積を計測してプレキシンによる同細胞の縮退を評価した。この結果、プレキシンA1のC末端の20アミノ酸を欠損させるとプレキシンA1によるCOS7細胞の縮退の割合は約2/3に減少し、またこれにさらにプレキシンB1を加えるとCOS7細胞の縮退はプレキシンを発現しないコントロールと同程度にまで減少した。

以上、本論文は、プレキシンファミリー分子間での相互作用を初めて見出した。また、この相互作用により、プレキシンの下流のシグナルが調節されることも示した。本研究はプレキシンのシグナル機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。