

審査の結果の要旨

氏名 申 義庚

本研究では、成熟した神経細胞における Doublecortin-like kinases (DCLKs) の機能を明らかにするため、分子細胞学的、生化学的、また、電気生理学的な手法も用いて実験を行った。その結果、以下の成果を得ることができた。

1. pan-DCLK 抗体を制作することで、DCLK の発現および神経細胞内分布を調べることができた。
2. 成体マウスの脳切片を DCLK 抗体で染色したところ、皮質の灰白質や海馬では強い反応が見られた反面、白質での発現は少ないことが観察された。また、海馬の分散培養を用いた、免疫染色の結果や遺伝子導入法による DCLK1-GFP の過剰発現の結果から、DCLK は樹状突起上に多く存在する somatodendritic protein であることを明らかにした。
3. 幼弱な神経細胞の免疫染色の結果、DCLK は伸長期突起の先端に強く発現することが確認できた。更に、DCLK1-GFP の過剰発現は樹状突起の伸長や分岐形成を促す一方、shRNA による DCLK の発現抑制は、樹状突起の伸長を阻害することから、DCLK は樹状突起の伸長の要になる調節分子であることが明らかになった。
4. シナプス形成後の神経細胞の免疫染色や、成体マウスの脳組織を用いた PSD 分画のウェスタンブロッティングの結果から、DCLK はシナプス後部肥厚 (PSD) にも発現することが確認できた。更に、full-length DCLK1 や kinase domain の過剰発現により、PSD 構造内のシナプス蛋白質の発現が低下することから、DCLK の kinase domain は PSD 蛋白質の局在を調節する機能を持つことが示された。

5. full-length DCLK1 や DCX domain の過剰発現をすることで、成熟神経細胞のスパインの形態変化が起こり、未熟なフィロポディア状の突起が多くなることが確認できた。DCLK の過剰発現がスパイン内 spinophilin の発現を低下させることから、この形態変化は spinophilin を介した DCLK の DCX domain との相互作用による可能性を示すことができた。
6. DCLK1-GFP の過剰発現は、シナプスのグルタミン酸作動性 AMPA 受容体の機能低下を引き起こし、シナプスの伝達効率を下げることが観察できた。この伝達効率の低下は DCLK の kinase domain によるシナプス蛋白の発現減少および、DCX domain によるスパインの形態変化の統合的な結果であることを示した。

DCLK は、神経細胞の樹状突起に局在し、シナプス成熟を制御しながら突起を伸長させることで、統合的にシナプスの可塑性やネットワークの形成を調節する蛋白であることを示すことができた。本論文は、今まで明らかになっていなかった、分化した神経細胞での DCLK の二つの異なる機能を明らかにすることで、神経細胞の成熟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。