

[過程-2]

審査の結果の要旨

稲生 大輔

本研究では、末梢神経において活動依存性の神経-グリア細胞間情報伝達として知られる、ATP を介したシュワン細胞における IP₃-Ca²⁺シグナルが、生後のミエリン鞘形成期のシュワン細胞の発達にどのような生理的役割を持つかについて解析を行ない、以下の知見を得た。

1. 生体内のミエリン鞘形成期のシュワン細胞の生理機能の解析を進めるため、新生児ラットの坐骨神経に電気穿孔法を適用し、シュワン細胞へ選択的に外来遺伝子導入を行なう手法を開発した。
2. ミエリン鞘形成期のシュワン細胞の ATP 受容体として、P₂Y₂ 受容体を見出した。上記遺伝子導入法を用いて、P₂Y₂ 受容体に対する shRNA または IP₃ 脱リン酸化酵素である IP₃ 5-ホスファターゼを遺伝子導入し、生後のミエリン鞘形成期のシュワン細胞における ATP を介した細胞内 Ca²⁺上昇を慢性的に阻害した。蛍光蛋白質を同時導入することでシュワン細胞の形態を可視化したところ、ATP を介した細胞内 Ca²⁺上昇の阻害により、ミエリン鞘の発達とともに増加するパラメータである長さや太さが減少していた。すなわち、P₂Y₂ 受容体-IP₃-Ca²⁺シグナルがシュワン細胞の形態的な発達を促進することが明らかとなった。
3. Ca²⁺シグナルの下流において機能する候補分子として、末梢神経のミエリン鞘形成促進因子として知られる BDNF の関与を調べた。BDNF の発現量は坐骨

神経への ATP によりおいて増加した。シュワン細胞における BDNF の発現量を遺伝子導入により操作したところ、過剰発現時には形態的な発達は促進し、反対に shRNA によるノックダウン時には形態的な発達は抑制された。IP₃ 5-ホスファターゼ発現による抑制効果は BDNF 発現により回復した。以上から、BDNF が Ca²⁺シグナルの下流において発現制御を受け、シュワン細胞の発達を促進することが示唆された。

4. シュワン細胞の発達に中心的な役割を果たすシグナル伝達として知られる neuregulin-ErbB シグナルと P2Y₂ 受容体-IP₃-Ca²⁺-BDNF シグナルの関連を調べた。ErbB シグナルを阻害する分子であるドミナントネガティブ型 ErbB (DN-ErbB) と IP₃ 5-ホスファターゼを同時発現させたところ、ErbB 単独阻害時と比較してさらなる抑制効果が観察されなかった。また、DN-ErbB と BDNF を同時発現させたが、DN-ErbB による抑制効果は回復しなかった。これらの結果は、ErbB シグナルが BDNF の下流において機能している可能性を示唆する。

以上、本論文では、末梢神経における活動依存性の神経-グリア細胞間情報伝達分子である ATP がシュワン細胞の P2Y₂ 受容体を活性化し、IP₃-Ca²⁺-BDNF シグナルを介してシュワン細胞の生後発達を促進することを解明した。さらに、BDNF の下流においては、neuregulin-ErbB シグナルの関与が推測された。神経活動に依存したシグナル伝達がミエリン鞘形成期のシュワン細胞においてどのような生理機能を果たすかに関してはこれまで知見に乏しく、本研究によりその一端が明らかになったと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。