

論文の内容の要旨

論文題目

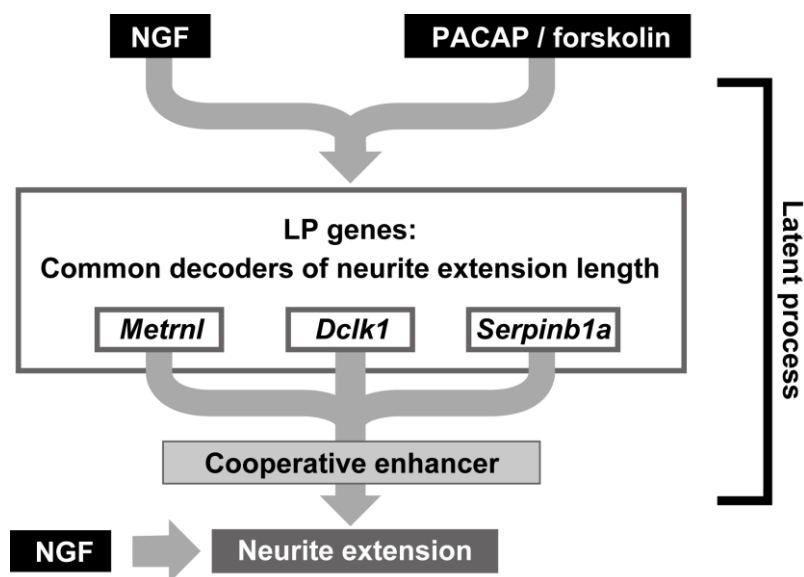
Latent process genes for cell differentiation are common decoders of neurite extension length

(細胞分化の準備期に機能する **Latent process** 遺伝子群の同定と、
神経突起伸長レベルのデコーダーとしての機能解析)

氏 名 渡邊 可奈子

細胞は細胞外因子に曝され、分化や増殖等の細胞運命を決定する。シグナル伝達や遺伝子発現を含む期間は、運命決定の情報を読み出し(デコード)、形態変化の準備をする Latent 期と考えられる。本研究室では、PC12 細胞における NGF 依存的神経突起伸長には ERK 活性と遺伝子発現を必要とする Latent 期が存在し、Latent 期の誘導には NGF の連続的な (STEP) 刺激と 1 時間程度の一過的 (PULSE) 刺激の両方が有効であることを明らかにした。しかし、神経突起伸長には刺激開始後長時間を要すことや、その“潜在”的な働きから Latent 期の分子機構は未解明なことが多い。本研究では、マイクロアレイと定量的 RT-PCR によるスクリーニングから得られた、Latent 期に発現が必要とされる遺伝子候補に関して、RNA 干渉実験により神経突起伸長への機能を解析した。その結果、Latent 期に発現し、その後の神経突起伸長に必要な 3 つの遺伝子、*Metrn1*、*Dclk1*、及び *Serpina1a* を LP 遺伝子 (Latent process 遺伝子) として同定した。LP 遺伝子の mRNA は、各々異なる時間変化—*Metrn1* は刺激後 3 時間にピークを持つ一過的な発現、*Dclk1* は刺激後 3 時間にピークを持つ一過的発現とその後の持続的な発現、*Serpina1a* は刺激後 24 時間までの持続的な発現—を示した。それらの発現は NGF の STEP と PULSE 刺激の両方により誘導された。また、それらの発現はどれも ERK 活性に依存しており、必要とされる ERK 活性の持続性は、発現の持続性が

長いものほど長かった。HA-タグを付加した LP 遺伝子を発現させることにより細胞内局在を観察したところ、細胞質、核や神経突起領域での発現に関して、各 LP 遺伝子によって異なる局在パターンを示した。さらに、3つの LP 遺伝子を同時に過剰発現させたところ、NGF 依存的突起伸長が促進された。つまり、これら LP 遺伝子は、時間的に異なる発現パターンと空間的に異なる局在パターンを持ちながら、神経突起伸長に協調的に働いていると考えられた。さらに、我々は、Latent 期を誘導する 1 次刺激とその後の突起伸長を誘導する 2 次刺激からなる刺激パターンを用いることで、神経突起伸長に対する Latent 期の作用について LP 遺伝子の発現に着目した定量的解析を行った。その結果、NGF と同じく Latent 期を誘導する PACAP、forskolin によっても各 LP 遺伝子は発現し、突起伸長に機能していた。一方、Latent 期を誘導しない EGF や insulin では LP 遺伝子は発現しなかった。さらに、Latent 期を誘導する NGF、PACAP 及び forskolin に関して、それら刺激の濃度をふり、それぞれ STEP、あるいは PULSE 刺激による 1 次刺激を行い、Latent 期 (0-12 時間) における LP 遺伝子の発現と、2 次刺激以降 (12-24 時間) の神経突起伸長を解析した。その結果、1 次刺激の種類を通して、Latent 期における各 LP 遺伝子の発現レベル(時間変化の積分値、あるいはピークでの発現量)は、その上流の ERK 活性レベルとは異なり、突起伸長レベルと正の相関をもっていた。即ち、神経突起伸長に機能する LP 遺伝子の mRNA 発現が神経突起伸長に先立つことを考えると、LP 遺伝子の発現は、刺激に含まれる神経突起伸長レベルの情報のデコーダーであると考えられた。



概念図

<神経突起伸長レベルのデコーダーとしての LP 遺伝子の働き>