

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 22 日現在

機関番号：32621

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20500315

研究課題名（和文） 神経細胞の形態形成における微小管アンカーの役割

研究課題名（英文） Involvement of microtubule-anchoring proteins in the dendritic development of neurons

研究代表者

林 謙介（HAYASHI KENSUKE）

上智大学・理工学部・教授

研究者番号：50218567

研究分野：神経発生学

科研費の分科・細目：神経科学、神経解剖学・神経病理学

キーワード：細胞・組織、神経科学、脳・神経、発生・分化

1. 研究計画の概要

我々は、神経発生の研究においてこれまであまり注目されていなかった、微小管マイナス端をアンカーする蛋白分子群に着目し、これまでの予備的研究に基づいて次のような仮説をもっている。

（1）神経細胞の移動に関して。神経細胞の移動の過程において細胞核の移動が見られるが、細胞骨格と細胞核との結合様式はよくわかっていない。我々が調べたところ、ニナインは核膜にも存在が見られる。細胞核の移動の力点として、核膜に微小管マイナス端がアンカーしているのではないだろうか。（2）樹状突起形成に関して。樹状突起において、中心体から離れた微小管がランダムに配向していることは樹状突起の発達に重要な意味を持っている。マイナス端を先に向けた微小管を樹状突起内にアンカーし、安定化する仕組みがあるのではないだろうか。

本研究ではこれらの仮説を検証するため、次の実験を行う。

（1）神経細胞の移動に関して。移動中の神経細胞は移動方向に向けて先端突起を形成する。先端突起の先端には成長円錐が発達しているが、通常の神経軸索の先端にある成長円錐との違いについてはよくわかっていない。我々はこれまでの研究によって、先端突起の成長円錐は盛んに活動はしているが、細胞体の移動が阻止されている状況では基質上を進行することがない、すなわち、先端突起は伸長する能力を欠くことを見出している。そこで、先端突起のシグナル伝達

系について研究を進める。通常の成長円錐の進行を制御する GSK が、先端突起の発生とその活動にどのように関わっているのかを調べる。

（2）樹状突起形成に関して。これまでの研究によって、樹状突起の形成に伴って微小管アンカータンパクであるニナインが、その局在を中心体から樹状突起に移すことが明らかになった。そこで、樹状突起内におけるニナインの発現変化、存在様式、挙動などを詳しく調べ、ニナインが樹状突起内でどのような構造をつくりどのような機能を持っているのかを明らかにする。また、神経細胞においてニナインの発現を抑制する実験系をつくり、ニナインの欠失が樹状突起の形成や機能にどのような影響を及ぼすかを調べる。

2. 研究の進捗状況

（1）神経細胞の移動に関して。非常によく移動することが知られている MGE ニューロンを培養し、その形態を観察するとともに、PI3K, Akt, GSK3b の働きについて調べた。MGE ニューロンの先端突起には活発な成長円錐が見られ、PI3K 阻害剤によって退縮したが、このとき、GSK3b の活性は変化しなかった。このことは、MGE ニューロンの先端突起の成長円錐は、他のニューロンの軸索の成長円錐と異なるシグナル伝達系が働いていることを示唆している。GSK3b の阻害は細胞の初期極性形成に影響し、発生した先端突起に対してはその伸長を促進した。このことは GSK3b が細胞の形態形成に 2 相性に働いていることを示唆する。

（2）樹状突起形成に関して。ニナインが神

経細胞においては中心体に局在しないことをイメージングによってさらに確認した。すでに知られている複数のニナインの中心体結合ドメインを神経細胞に発現させると、一つのドメインについて、神経細胞においても強く中心体に局在することが分かった。ドメイン解析をさらに進めることによって、神経細胞におけるニナインの局在制御の仕組みが分かると期待される。また、微小管形成に重要なガンマチューブリンが、神経細胞では中心体には少なくなり、樹状突起内に顆粒状に存在することも明らかになった。このことは、樹状突起は微小管アンカーという機能を持つだけでなく、微小管核形成の機能も持つことを示唆しており、したがって、神経細胞においては中心体の機能が完全に樹状突起に移行しているのではないかと想像させる。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

当初の仮説がおおむね実証されてきた。また、研究の焦点を絞ることができ、今後の新しい展望を見通せるようになってきた。

3. 今後の研究の推進方策

樹状突起形成に関して重要な知見が得られてきたので、研究を樹状突起形成に絞りたいと考えている。また、扱う分子は微小管アンカータンパクだけでなく、中心体タンパク全体に広げて研究を進展させたいと考えている。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

① Ohama Y, Hayashi K. (2009) Relocalization of a microtubule-anchoring protein, ninein, from the centrosome to dendrites during differentiation of mouse neurons. *Histochem. Cell Biol.* 132:515–524. (査読有)

[学会発表] (計6件)

① 林 謙介、新村友里、網中裕一
移動性ニューロンの先導突起形成と GSK3
第33回日本神経科学大会 2010年9月2日～4日 神戸コンベンションセンター

② 平田一人、大浜勇作、林 謙介
ニューロンの樹状突起形成における微小管アンカー蛋白の関与
日本動物学会 第80回静岡大会 2009年9月17～20日

③ 河端 渉、林 謙介
神経系細胞 Neuro2a の細胞移動による突起形成
日本動物学会 第80回静岡大会 2009年9月17～20日

④ 新村友里、林 謙介
高い移動能を有する内側基底核原基ニューロンの極性形成
第79回日本動物学会大会 2008年9月5日 福岡大学

⑤ Hiroshi Shinohara, Kensuke Hayashi, Takai Miyata, Masanori Takahashi, Noriko Osumi
Downregulation of Ninein at the Apical Side of Neuroepithelial Cells of the Pax6 Mutant
第42回日本発生生物学会大会 2008年5月28–31日 新潟、朱鷺メッセ

⑥ Yusaku Ohama, Kazuto Hirata, Kensuke Hayashi
Gamma tubulin and microtubule-anchoring protein in the dendrite development
第42回日本発生生物学会大会 2008年5月28–31日 新潟 朱鷺メッセ

[その他]

URL :

<http://pweb.cc.sophia.ac.jp/khayashi/lab.html>