

氏名(生年月日)	エ 衛 藤 薫	カオル
本 籍		
学 位 の 種 類	博士(医学)	
学 位 授 与 の 番 号	甲第 388 号	
学 位 授 与 の 日 付	平成 17 年 2 月 25 日	
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)	
学 位 論 文 題 目	Role of mitogen-activated protein kinase upstream protein kinase (MUK) in axonal growth (発生期脳における MAPK upstream protein kinase (MUK) 蛋白質の軸索伸展への影響の検討)	
主 論 文 公 表 誌		
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 大澤真木子 (副査) 教授 佐々木 宏, 岩田 誠	

論文内容の要旨

〔目的〕

小児の脳障害の原因のひとつとして、脳の形成異常が重要な役割を果たす。近年、発生期の大脳皮質形成過程における、様々な分子の制御機構の関与が解明されつつある。MAPK upstream protein kinase (MUK) は MAP キナーゼカスケードに属し、その下流に存在する JNK (Jun-N-terminal kinase) は細胞増殖・分化、アポトーシス、形態形成などの生命現象において重要な役割を果たしている。しかし、その機能については未解明ことが多い。

本研究では、発生期マウス大脳をモデルとし、神経細胞における MUK 蛋白質の制御機構を解明することを目的とする。

〔対象・方法〕

1) *in situ* ハイブリダイゼーション法、免疫組織化学法により、発生期大脳皮質における MUK の発現分布を解析した。

2) MUK の機能を検討するために、ラットの褐色細胞腫由来の細胞株である PC12 に MUK の強制発現 (CAG プロモーター) ベクターおよび RNA 干渉による発現抑制 (H1 プロモーター) ベクターをリポフェクション法で導入し検討した。下流へのシグナル伝達に関しては、ウエスタンプロット法により解析した。

3) 電気穿孔法を用いて、発生期マウス大脳皮質の脳室帯に MUK の発現抑制ベクターを導入した。なお、導入細胞の可視化のために導入は GFP と共に行った。その後、初代分散培養を施行し、神経細胞の突起伸展に与える影響を検討した。

〔結果〕

1) 発生期大脳皮質で、MUK 蛋白質の分布は脳室下帯・中間帯に、同 RNA の発現は皮質板に強く認め、異なる発現分布様式を示した。その他、脳梁・前交連・内包・外包にも蛋白質の局在を認めた。

2) PC12 で機能解析を行った結果、機能抑制実験において有意 ($p < 0.01$) な突起伸展の抑制を認めた。一方、強制発現実験では、対照群 (GFP 単独群) と有意差 ($p > 0.01$) はなかった。また、ウエスタンプロットで、RNA 干渉による MUK の発現抑制により下流の JNK のリン酸化状態が抑制されることが確認された。

3) 発生期大脳皮質の初代培養系における機能抑制実験において、対照群と比較して有意 ($p < 0.01$) な突起伸展の抑制を認めた。また、免疫細胞染色で、MUK 蛋白質の軸索への局在の抑制も認めた。

〔考察〕

1) 大脳皮質における MUK 蛋白質・RNA レベルでの分布・発現の違いにより、蛋白質は細胞質から軸索へ輸

送されると考えられた。

2) MUK は JNK のリン酸化を介して軸索伸展を制御することが示唆された。

〔結論〕

発生期大脳皮質形成過程において、MUK-JNK カスケードを介した軸索伸展の制御機構が示唆された。軸索伸展は発生期大脳皮質形成過程において形態形成、シグナル伝達等大きな役割を担うことが知られており、今後の更なるメカニズムの解明が期待される。

論文審査の要旨

発生期マウス大脳をモデルとし、神経細胞における MAPK upstream protein kinase (MUK) 蛋白質の制御機構を研究した。同蛋白質と、同 RNA が異なる発現分布様式を示したことにより、蛋白質は細胞質から軸索へ輸送されると推測した。さらに、機能抑制実験において有意な突起伸展の抑制を認め、一方、強制発現実験では、対照群と有意差を認めなかった。

また、ウエスタンプロットで、RNA 干渉による MUK の発現抑制により下流の JNK のリン酸化状態が抑制されることを確認している。さらに発生期脳皮質の初代培養系における機能抑制実験において、対照群と比較して有意な突起伸展の抑制を認めた。また、免疫細胞染色で、MUK 蛋白質の軸索への局在の抑制も認めた。

以上より、発生期大脳皮質形成過程における、MUK-JNK カスケードを介した軸索伸展の制御機構を示唆した。この点で本論文は価値がある。