

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	構成タンパク質の解析による神経細胞の脂質ラフトの機能構造に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	花房慶
Author(English)	Kei Hanafusa
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11252号, 授与年月日:2019年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:林 宣宏,一瀬 宏,徳永 万喜洋,村上 聡,長田 俊哉
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11252号, Conferred date:2019/9/20, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	花房 慶	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	林 宣宏	准教授	長田 俊哉	准教授
	審査員	一瀬 宏	教授		
		徳永 万喜洋	教授		
村上 聡		教授			

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「構成タンパク質の解析による神経細胞の脂質ラフトの機能構造に関する研究」と題し、五章より構成されている。

第一章「序論」では、研究の背景を述べ、着目した分子について説明している。まず、本研究では培養神経細胞を用いて、その細胞膜脂質ラフトに着目した研究により神経の機能を解明することを目的とすることを述べている。次に、第二章では神経分化前後における脂質ラフト、第三章では BDNF 刺激によって変化する脂質ラフトマーカータンパク質の相互作用因子に着目して研究を行なったことを述べている。脂質ラフトについては、1997 年に Simon と Ikonen によって提唱された細胞膜上に構成されるマイクロドメインであること、また、プラットフォームである脂質ドメインにタンパク質が会合することで細胞応答などの機能を有する機能性マイクロドメインとして表現されることを説明している。次に、脂質ラフトに集積するタンパク質として、Flotillin2 (Flot2), Fyn, c-Src の説明をしている。また、神経細胞に関しては、分化と BDNF 刺激による細胞の応答を説明している。最後に、脂質ラフトの構成タンパク質であり、脳組織に大量に存在することから神経特異的なタンパク質と考えられている Neuronal tissue-enrichment acidic protein 22 kDa (NAP-22) に今回着目したと述べている。

第二章「神経分化前後における脂質ラフトの解析」では、脂質ラフトマーカータンパク質の (1) 神経分化過程における発現量と存在量の変化の解析、(2) ショ糖密度勾配遠心法による局在解析、(3) 免疫蛍光染色による局在検討を行ったと述べている。その結果、Flot2 は神経分化後に脂質ラフトに移行し、神経突起において Flot2 を含む脂質ラフトが形成されていることがわかったと述べている。また、神経分化後に c-Src とリン酸化体 Fyn もしくは c-Src は脂質ラフト以外の領域に移行しており、Fyn は脂質ラフトへの局在が増加し、c-Src の脂質ラフトへの局在が減少していることがわかったと述べている。

第三章「BDNF 刺激下における NAP-22 の機能解明」では、BDNF-TrkB シグナリングとの関連性が高いと先行研究により考えられている NAP-22 の機能を、その相互作用因子を同定することによって明らかにすることを目的とすると述べている。最初に、今回使用した細胞の BDNF 刺激を検討している。次に、NAP-22 を固相化したビーズを作製し、これを用いて NAP-22 と細胞内タンパク質の相互作用因子を同定したと述べている。同定されたものの中で eIF4E に着目し、共免疫沈降法によって直接的な相互作用を検証したが共免疫沈降による直接的な相互作用は確認できなかったこと、免疫染色によってその局在を観察し、未刺激の細胞に比べ、BDNF 刺激後の細胞では両者の顕著な共局在が認められたことから、両者は直接の相互作用ではなく、何らかの分子を介した間接的な相互作用、あるいは、他の分子も加わった複合体形成時のみ相互作用を生じる可能性が示唆されたと述べている。

第四章「総括と今後の展望」では、本論文で得られた結果について総括し、考察を述べている。最初に、ノンラフトマーカーである Na/K ATPase と共局在を示さない Flot2 が神経突起に局在していたことから、Flot2 が脂質ラフトに局在し、刺激によるエンドサイトーシスに関わると考えられると述べている。次に、NAP-22 が BDNF 刺激によって脂質ラフトに移行したことから、BDNF 刺激によって脂質ラフトを介した細胞応答が起きていると考えられると述べている。また、TrkB 受容体も BDNF を認識することで脂質ラフトに移行するため、NAP-22 がその移行メカニズムに関わる可能性があるとして述べている。さらに、NAP-22 がミトコンドリアやシナプス小胞などの酸性脂質領域、さらに脂質ドメインに N 末端のミリストイル基によって局在し、C 末端側で細胞骨格と相互作用することで細胞内分子輸送に関わっている可能性があるとも述べている。NAP-22 が神経突起での局所タンパク質合成に関わっている可能性にも言及している。

第五章「材料と方法」では、本研究で用いた手法の手順について具体的に説明している。

以上を要するに、本論文は、細胞膜脂質ラフトの動態を、神経分化や成長因子による刺激に伴うマ

一カータンパク質や構成因子の変化により調べることにより、神経細胞の機能構造の一端を解明したものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。