

氏名	江上洋平		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	第4847号		
学位授与年月日	平成18年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者		
学位論文名	Induced expressions of Rab24 GTPase and LC3 in nerve-injured motor neurons (運動ニューロン損傷時における Rab24 および LC3 の発現動態)		
論文審査委員	主査教授 木山博資	副査教授 森啓	
	副査教授 岩井一宏		

論文内容の要旨

【目的】機能分子を選別し機能する「場」へと運ぶ細胞内輸送制御分子が、神経障害時にどのような応答を示すかは不明な点が多い。我々はラット舌下神経損傷・再生モデルを用いて、細胞内輸送に關与する Rab family に属する分子の発現動態を検討した。

【材料と方法】ラット舌下神経切断モデルを用いて、舌下神経核における細胞内輸送関連分子の発現動態を、*in situ* hybridization、RT-PCR、免疫組織化学、Western Blotting にて検討した。また PC12 細胞を用い、Rab family の発現制御の解析を行った。

【結果】神経損傷運動ニューロンにおいて、Rab family のうち Rab24 の発現誘導が観察された。PC12 細胞では、proteasome 活性阻害剤のみが Rab24 の発現上昇を引き起こし、他の酸化、ER、アポトーシスなどの刺激では Rab24 の発現亢進は見られなかった。Rab24 の発現と autophagy との関連が報告されており、autophagosome のマーカである LC3-II の蓄積を同時に検討した。その結果、PC12 細胞において、proteasome 活性を阻害すると、LC3 mRNA の上昇と顕著な LC3-II の蓄積、Rab24 と LC3 の共局在が認められた。同様に舌下神経損傷運動ニューロンにおいても、神経核での LC3 mRNA の発現上昇と LC3-II の蓄積が確認された。また、Rab24 および LC3 の免疫組織化学的解析から両者は損傷運動ニューロンにおいて部分的に共局在を示した。

【結論】Rab24 はプロテアソーム活性阻害時に著明に発現亢進することより、蛋白の分解過程に關与している可能性が示唆された。また神経損傷時における、Rab24 の発現上昇と LC3-II の蓄積及び共局在は、損傷運動ニューロン再生過程で autophagy が生じている可能性を示唆する。

論文審査の結果の要旨

機能分子を選別し機能する「場」へと運ぶ細胞内輸送制御分子が、神経障害時にどのような応答を示すかは不明な点が多い。本研究者はラット舌下神経損傷・再生モデルを用いて、細胞内輸送に關与する Rab family に属する分子の発現動態を検討した。

方法は、ラット舌下神経切断モデルを用いて、舌下神経核における細胞内輸送関連分子の発現動態を、*in situ* hybridization、RT-PCR、免疫組織化学、Western Blotting にて検討した。また PC12 細胞を用い、Rab family の発現制御の解析を行った。

末梢神経切断モデルを用いて、Rab family 蛋白質のいくつかについて発現動態を検討したところ、Rab24 が神経損傷運動ニューロンにおいて速やかに発現誘導された。次に、Rab24 の発現誘導がどのような刺激によるものかを明らかにするために薬剤を用いた *in vitro* 解析を行った。PC12 細胞では、proteasome 活性阻害剤が

Rab24 の発現上昇を引き起こし、他の酸化、ER、アポトーシスなどの刺激では Rab24 の発現亢進は見られなかった。Rab24 は飢餓条件下において autophagosome へ局在することが報告されている。そこで、autophagosome のマーカである LC3-II の蓄積を同時に検討した。その結果、PC12 細胞において proteasome 活性を阻害すると、LC3 mRNA の上昇と顕著な LC3-II の蓄積、Rab24 と LC3 の共局在が認められた。同様に舌下神経損傷運動ニューロンにおいても、神経核での LC3 mRNA の発現上昇と LC3-II の蓄積が確認された。また、Rab24 および LC3 の免疫組織化学的解析から両者は損傷運動ニューロンにおいて部分的に共局在を示した。

以上の結果から、本論文は Rab24 が proteasome 活性阻害時に著明に発現亢進することより、蛋白の分解過程に関与している可能性を示唆した。また神経損傷時における、Rab24 の発現上昇と LC3-II の蓄積及び共局在から、損傷運動ニューロン再生過程で autophagy が生じ、何らかの機能をはたしている可能性を示唆している。

以上の知見は、神経再生のメカニズムを明らかにする上で、基本的かつ重要な知見を与えるものであり、本研究者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判断された。