

神経突起形成のマスター分子 Protrudin の発見と機能解析

Isolation and characterization of protrudin, a master regulator of neurite formation



中山 敬一 (NAKAYAMA KEIICHI)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究の概要

神経細胞は、神経突起と呼ばれる突起を有している。われわれは中枢神経系に高発現している新規タンパク質 **Protrudin** を同定し、このタンパク質が神経細胞の突起形成を促すマスター分子であることを突き止めた。さらにこのタンパク質が突起を形成する分子メカニズムを明らかにした。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学 (5805)

キーワード：神経細胞、神経突起、膜輸送、Gタンパク質、リン酸化

1. 研究開始当初の背景・動機

脳虚血、脳挫傷、脊髄損傷といった神経損傷において損傷神経軸索再生の分子機構を解明することは重要な問題である。神経軸索は1メートル以上にもなりうる特殊な細胞突起であり、その形成は神経細胞に特有の現象である。著しい細胞突起伸長は必然的に細胞表面積の増大を伴うため、突起先端に選択的に膜成分を輸送する必要があるが、その分子機構や神経特異性についてはほとんど不明であった。

2. 研究の目的

われわれは神経突起形成因子として **Protrudin** を発見した。本研究ではこの **Protrudin** の生物学的な作用を細胞レベル・個体レベルで詳細に解析し、神経軸索突起形成の分子機構を明らかにする。また、損傷神経において、**Protrudin** による神経軸索突起形成誘導により、人工的に損傷神経の保護、再生を促進することを試みる。

3. 研究の方法

Protrudin の分子生物学的、生化学的、細胞生物学的解析よりその構造機能連関を解析すると共に、**Protrudin** 遺伝子改変動物を作製して、遺伝学的な解析を行う。さらにヒト疾患との関わりについても検討を行い、最終的に神経再生モデルにおいてこの分子の有効性を検討する。

4. これまでの成果

神経突起が形成されるためには、細胞内の膜成分が突起形成部位に限定して供給されなければならない。その突起への膜成分の供給は、細胞膜のリサイクルを介してなされていることが既に知られていた。細胞膜のリサイクルとは、細胞膜の一部が細胞内に取り込まれて (エンドサイトーシス)、リサイクルエンドソームという細胞内小器官にいったん回収され、再び特異的な部位に向けて分泌される (エキソサイトーシス) システムである。私は、このリサイクルシステムを制御することにより神経突起形成を誘導する活性を持つ新規のタンパク質 **Protrudin** を発見した。**Protrudin** は神経細胞以外の細胞に発現させると神経突起に似た突起を形成させる作用を持つ (図1)。

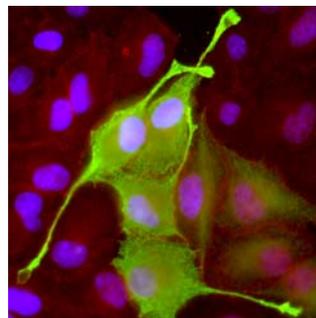


図1 HeLa細胞に **Protrudin** を強制発現すると神経細胞に似た突起を形成する

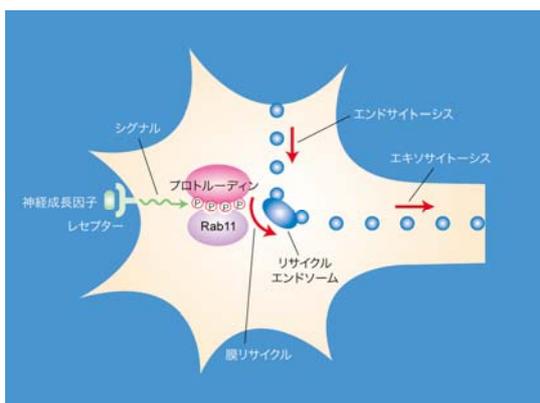
Protrudin の組織発現分布を調べたところ、脳、脊髄などの中枢神経系に高い発現が認められた。さまざまな細胞株において protrudin の発現レベルを比較すると、PC12 細胞などの神経細胞株で高い発現が認められた。

また、マウス脳神経の初代培養細胞において protrudin の細胞内発現分布を観察すると、細胞周縁の細胞膜や核に近接した中心体近傍、さらに神経突起先端の成長円錐に強い発現が認められた。PC12 細胞は神経成長因子 NGF を添加すると神経突起を形成する。PC12 細胞に NGF を添加すると、初め細胞質全体に分散していた Protrudin は、数時間後にいったん中心体近傍に強く蓄積し、その後突起の伸長と共に突起先端へと移動する、という特徴的な局在変化が観察された。また中心体近傍の protrudin が集積する部位は、Rab11 が局在するリサイクルエンドソームという細胞内小器官であった。

神経細胞において RNAi により protrudin のタンパク質発現を低下（ノックダウン）させたところ、NGF 添加による神経突起形成が阻害された。よって protrudin は神経突起の形成に必要なタンパク質であることがわかった。現在までにわかっている Protrudin の突起形成メカニズムは下記のとおりである（図2）。

図2 Protrudin が突起を誘導する分子メカニズム

- 1) 神経成長因子などの神経分化への誘導シグナルが細胞表面の受容体に結合する
- 2) その信号に応じてプロトルーディンがリン酸化される
- 3) リン酸化されたプロトルーディンが



Rab11 という細胞膜のリサイクルを制御するタンパク質と結合する

- 4) それに伴い、突起形成部位への細胞膜成分のリサイクル輸送が促進される
- 5) その結果、神経突起形成が誘導される

5. これまでの進捗状況と今後の計画

現段階で研究は順調に進行しており、今後は Protrudin のノックアウトマウス作製やプロテオミクス解析、構造解析、ヒト疾患との関係解明、さらに神経再生モデルにおける有効性確認などを行う予定である。

6. これまでの発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者には下線) 発表論文：

- 1) Shirane, M., **Nakayama, K. I.**: Protrudin induces neurite formation by directional membrane trafficking. *Science*, 314: 818-821 (2006).
- 2) **Nakayama, K. I.**, Nakayama, K.: Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer. *Nature Rev. Cancer*, 6: 369-381 (2006).
- 3) Takahashi, A., Ohtani, N., Yamakoshi, K., Iida, S., Tahara, H., Nakayama, K., **Nakayama, K. I.**, Ide, T., Saya, H., Hara, E.: Mitogenic signalling and the p16INK4a-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence. *Nature Cell Biol.*, 8: 1291-1297 (2006).
- 4) Onoyama, I., Tsunematsu, R., Matsumoto, A., Kimura, T., de Alboran, I. M., Nakayama, K., **Nakayama, K. I.**: Conditional inactivation of Fbxw7 impairs cell-cycle exit during T cell differentiation and results in lymphomagenesis. *J. Exp. Med.*, 204: 2875-2888 (2007).
- 5) Miyamoto, K., Araki, K.Y., Naka, K., Arai, F., Takubo, K., Yamazaki, S., Matsuoka, S., Miyamoto, T., Ito, K., Ohmura, M., Chen, C., Hosokawa, K., Nakauchi, H., Nakayama, K., **Nakayama, K. I.**, Harada, M., Motoyama, N., Suda, T., Hirao, A. Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell Stem Cell*, in press. (2007).
- 6) Tsunematsu, R., Nishiyama, M., Kotoshiba, S., Saiga, T., Kamura, T., **Nakayama, K. I.**: Fbxw8 is essential for Cull1-Cul7 complex formation and for placental development. *Mol. Cell Biol.*, 26: 6157-6169 (2006).

その他 英文論文 6 4 報

受賞：第一回日本学術振興会賞（2005）、
第四回 JCA-Mauvernay Award 受賞（2007）

ホームページ等

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/saibou/index.html>