

要 約

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	井 上 聖 香
主 論 文 題 名 Drebrin-like (Dbnl) Controls Neuronal Migration via Regulating N-Cadherin Expression in the Developing Cerebral Cortex (発生期大脳皮質において、Drebrin-likeはN-カドヘリン発現を調節することにより神経細胞移動を制御する)				
(内容の要旨) 哺乳類の大脳新皮質は、6層構造を呈している。この6層を構成する興奮性の神経細胞は、脳室面近くで誕生し、多極性細胞の形態を示した後、双極性細胞の形態をとり、放射状グリアを足場として脳表面へと向かって長い距離を移動する。この移動が障害されると滑脳症や皮質下帯状異所性灰白質などの要因となり得る。アクチン関連タンパク質であるDrebrin-like protein (Dbnl) は、F-アクチンやdynaminを介してアクチン骨格の再構築や樹状突起形成、エンドサイトーシスに重要な役割を果たしている。Dbnlは脳において発現が確認されているが、発生期大脳皮質におけるDbnlの機能については未だ解明されていない。そこで、本研究では発生期大脳皮質におけるDbnlの機能を明らかにするとともに、その制御機構を解明することを目指した。 本研究では、まずDbnlのマウス発生期大脳新皮質における発現を免疫組織化学染色法により調べたところ、胎生16.5日目の切片にて脳室下帯付近および辺縁帯付近において多く局在することを見出した。また、生化学的手法により、FynキナーゼによるDbnlのリン酸化にチロシン残基Y337/Y347が必要であることを見出した。さらに、子宮内胎仔脳電気穿孔法を用いてDbnlの移動神経細胞における機能を検証した結果、Dbnlのノックダウンは神経細胞移動を障害し、この移動にはDbnlのY337/Y347のリン酸化が関与している可能性が示された。また、Dbnlをノックダウンした神経細胞の形態を観察した結果、Dbnlは多極性移動細胞の突起形成や、双極性細胞に変換した後の細胞極性、皮質板への進入においても重要な機能を有することが示唆された。 先行研究により、N-カドヘリンが中間帯付近での神経細胞移動に関わっていることが知られている。そこで、大脳新皮質の初代細胞にDbnlノックダウンベクターを導入して培養後、N-カドヘリンの細胞外領域のみを認識する抗体を加え、細胞表面に結合した抗体量をウエスタンブロット法を用いて定量した結果、Dbnlは細胞膜表面のN-カドヘリン量を制御していることが示唆された。さらに、Dbnlノックダウンによって障害された細胞移動は少量のN-カドヘリンの導入により中程度にレスキューされた。一方、Dbnlはアクチン細胞骨格の構築を促進すること、N-カドヘリンはβ-カテニンとα-カテニンを介してアクチンフィラメントと相互作用していること、α-カテニンのファミリーであるαN-カテニンは中間帯で発現が強いことが知られている。そこで、DbnlがαN-カテニンを介して神経細胞移動を制御していると予想し検証した結果、Dbnlノックダウンによって障害された神経細胞移動はαN-カテニンにより中程度にレスキューされ、少量のN-カドヘリンおよびαN-カテニンの両分子の導入によって完全にレスキューされた。 以上の結果より、発生期大脳新皮質においてDbnlはαN-カテニン/N-カドヘリンを介して神経細胞移動を制御していることが示された。				