

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 線虫の神経軸索再生を制御するシグナル調節機構

氏 名 清水 達太

論 文 内 容 の 要 旨

神経軸索再生は損傷した軸索を修復する機構であり、線虫から哺乳動物まで種を超えて保存された生命現象である。しかし、その制御機構の分子メカニズムについてはまだ不明な点が多く残されている。近年、線虫 *Caenorhabditis elegans* の D 型運動神経の神経軸索再生において MLK-1 MAPKKK – MEK-1 MAPKK – KGB-1 JNK MAPK から構成される JNK 型 MAPK 経路が非常に重要な役割を担うことが報告された。また、網羅的 RNAi スクリーニングにより JNK 経路に関与する因子として 92 個の *svh* 遺伝子が同定された。このうち、HGF 様増殖因子 SVH-1 と Met 様受容体チロシンキナーゼ SVH-2 はリガンド – 受容体として MLK-1 をリン酸化することで JNK 経路を活性化し、神経軸索再生を制御することが明らかとなった。この報告以降、他の *svh* 遺伝子の神経軸索再生への関与が次々と報告されている。そのため、未解析の *svh* 遺伝子の神経軸索再生との関連を明らかにすることで、神経軸索再生を制御する新たなシグナル調節機構の発見につながることを期待される。そこで、本研究では未解析の *svh* 遺伝子のうち、*svh-6* と *svh-15* の 2 つの遺伝子に着目して解析を行った。

svh-6/tns-1 は哺乳動物のテンシンのホモログをコードしていた。本研究では TNS-1 が細胞自律的に神経軸索再生を制御することを明らかにした。また、神経軸索再生における TNS-1 の機能には C 端に存在する SH2 ドメインと PTB ドメインが必要であることを見出した。さらに生化学的な解析により、TNS-1 は SH2 ドメインを介して自己リン酸化した SVH-2 と結合すること、PTB ドメインを介してインテグリン β サブユニッ

トである PAT-3 と結合することを示した。これまでに MLK-1 の活性化には SVH-2 とインテグリンの下流で機能する MAP4K である MAX-2 によるリン酸化を受けることが必要であることが明らかとなっている。遺伝学的な解析により、*tns-1* 変異体の軸索再生率低下の表現型は SVH-2 または MAX-2 を過剰発現で抑圧されることを見出した。以上の結果より、TNS-1 は SVH-2 からのシグナルとインテグリンからのシグナルを統合することで JNK 型 MAPK 経路を活性化し、神経軸索再生を制御すると考えられる。

svh-15/brc-2 は哺乳動物 BRCA2 の線虫ホモログであり、神経軸索再生に必要な遺伝子であることを見出した。また、神経軸索再生における BRC-2 の結合因子として ALP/Enigma ファミリータンパク質 ALP-1 を同定した。さらに RHO-1/Rho GTP アーゼ - LET-502/Rho キナーゼ(ROCK)経路も神経軸索再生を促進するシグナル伝達経路であることを明らかにした。遺伝学的、生化学的な解析により、この経路において、BRC-2 は RHO-1 による LET-502 の活性化のステップで機能することを示した。さらに LET-502 はミオシン軽鎖 MLC-4 のリン酸化を介して神経軸索再生を制御することを明らかにし、*in vivo* において軸索切断後に軸索の先端で MLC-4 がリン酸化されることを示した。この時、ALP-1 は BRC-2 だけでなく、LET-502 と MLC-4 とも結合し、LET-502 による MLC-4 のリン酸化の足場として神経軸索再生を制御することを明らかにした。以上の結果から、BRC-2 – ALP-1 複合体による Rho – ROCK – MLC リン酸化経路の制御が新たに神経軸索再生を促進するシグナル調節機構であることが明らかとなった。