

博士論文 (要約)

mTOR 新規相互作用分子 Flightless-I
の神経系における機能解析

川本 健太

博士論文の内容の要約

論文題目 mTOR 新規相互作用分子 Flightless-I の神経系における機能解析

氏名 川本 健太

要旨

Mammalian target of rapamycin (mTOR)は栄養状態や成長因子に応答して活性化するセリン/スレオニンキナーゼである。mTOR は細胞内において 2 種類の複合体を形成して機能することが知られている。mTOR complex1(mTORC1)はアミノ酸や成長因子などの刺激に応答して活性化し、タンパク質合成の促進やオートファジーの抑制に関連する。一方、mTOR complex2 (mTORC2)は Akt をリン酸化することによって mTORC1 の活性化因子として機能する。しかしながら mTORC2 は細胞骨格系タンパク質アクチンの形態維持制御に関連することが示唆されている以外、生理的意義は未解明である。また、mTOR 経路の恒常的な活性化は様々な精神神経疾患と関連する。結節性硬化症は mTOR 経路上流の Tsc1TSC1/2 が原因遺伝子であると報告されていることが知られている。Tsc1TSC1/2 の欠損に伴う mTORC1 シグナルの異常な活性化は、神経系を含む全身に良性の腫瘍が確認され、てんかんや自閉症様の症状を示す。

本研究では、mTOR シグナルの活性化による神経疾患の発症メカニズムを明らかにするため、新規 mTOR 相互作用分子の同定を試みた。前脳特異的に FLAG 標識を付加した活性型 mTOR を発現する Tg マウス(mTOR Tg マウス)を用いて、抗 FLAG 抗体による活性型 mTOR の免疫沈降物に対する質量分析とウエスタンブロット解析を行った結果、Flightless-I homolog(Flii)が相互作用分子として同定された。Flii は Gelsolin ファミリーに属するアクチン制御因子であり、Flii ノックアウトマウスは胎生致死であることが知られている。そこで、Cre-loxP 組換えを用いた Flii 遺伝子のコンディショナルノックアウトマウス(cKO マウス)の作製を行った。ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムによって Flii ヘテロノックアウトマウスおよび Flii 遺伝子に loxP 配列をノックインした Flii flox マウスを得た。これらのマウスを終脳特異的に Cre を発現する Emx1(Cre/+)マウスを掛け合わせることで、終脳特異的 Flii cKO マウス[Flii(flox/-);Emx1(Cre/+)]を得た。終脳特異的 Flii cKO マウスの大脳皮質よりタンパク質抽出液を調製し、ウエスタンブロット解析を行った結果、Flii タンパク質の発現量が顕著に低下していることが明らかとなった。また、終脳特異的 Flii cKO マウスは、コントロールと比較して大脳皮質の低形成が認められた。大脳皮質の低形成は、胎生期において mTORC1 を活性化したマウスや、mTORC1 構成分子である Raptor の cKO マウスにおいても観察される。従って、Flii は mTOR シグナルを介して大脳皮質の形態形成を制御している可能性が示唆された。さらに、胎生期の大脳皮質において Flii cKO マウスは酸化スト

レス応答の活性化やアポトーシスの促進が確認された。これらの結果から、Flii はこれまで未知であった mTOR シグナルと細胞骨格の関連を明らかにし、大脳皮質の発生過程に寄与すると考えられる分子であることが示唆された。