

論文内容の要旨

論文題目

非古典的 Rac-Cofilin 伝達経路による actin 骨格制御を介したショウジョウバエキノコ体神経の軸索伸長調節における Sickie 遺伝子の機能の研究

(Studies on the function of Sickie in regulation of the F-actin-mediated axonal growth of *Drosophila* mushroom body neurons by the non-canonical Rac-Cofilin pathway)

氏名 阿部 崇志

Rac-Cofilin 経路は細胞骨格の再編成を制御し、神経軸索の形成に必須の役割を果たす。古典的には、RacGTPase (Rac) は下流の Pak-kinase (Pak)、LIM-Kinase (LIMK) によって伝達される Rac-Pak-LIMK 経路のスイッチとして機能し、Filamentous-actin (F-actin) の切断・脱重合を行う Cofilin に対し抑制的に機能することで、actin 骨格再構成を介した軸索伸長を抑制することが知られている。一方、ショウジョウバエにおいては、Rac は Pak 非依存的な経路を介して軸索伸長において促進的に機能することも示唆されていた。しかしながら後者の非古典的 Rac 経路が、最終的に Cofilin 依存的な actin 骨格の制御に寄与することで軸索伸長を促進しているのかどうかは明らかではなかった。また、actin 骨格や Cofilin のリン酸化状態の内在性レベルでの変化を、同一個体内の発生過程の神経軸索において同時に検出するという試みはこれまでどの生物種においても報告されていなか

った。

本研究では、ヒトの Neuron-navigaotr-2 (NAV2) のホモログである Sickie が、ショウジョウバエキノコ体の神経軸索伸長を細胞自律的に正に制御し、その制御は非古典的 Rac-Cofilin 経路を介していることを示唆する結果を得た。Sickie は F-actin に富む新生のキノコ体神経軸索において顕著な発現が観察された。変異体は軸索伸長異常の表現型を示したが、キノコ体特異的に Sickie の transgene を発現させることでレスキューされた。種々の制御因子との遺伝学的相互作用の検証の結果、Sickie は Rac-Cofilin 経路の構成因子と密接な遺伝学的な相互作用を示すことが明らかになった。Mosaic analysis with a repressible cell marker (MARCM) 法によって変異体組織をモザイク状に誘導した結果、*sickie* や Rac-Cofilin 経路構成因子の変異体の神経軸索では、F-actin とリン酸化（不活性型）Cofilin の発現レベルが変化していることが明らかになった。また、*sickie* 変異体の発生過程の脳では、リン酸化 Cofilin の発現レベルが上昇していた。また、*sickie* 変異体下で Cofilin の機能亢進を誘導すると表現型が緩和することを見出した。さらに、Cofilin 抑制因子 LIMK の強制発現の表現型が Sickie の強制発現により抑制できるが、Cofilin の脱リン酸化による活性化を担う Slingshot (Ssh) の変異体下では抑制できないこと、Ssh または Pak 非依存的 Rac の LIMK 強制発現に対する抑制作用が *sickie* 変異体下では正常に発揮されないことが明らかになった。

当初、Sickie の哺乳類ホモログである NAV は、微小管集積因子として同定され解析されてきたため、微小管関連因子との関連も調べた結果、Sickie は微小管＋端集積因子 EB1 との結合モチーフをもち、EB1、 β -tubulin と遺伝学的相互作用を示すことが明らかになった。

以上の結果から、Sickie は非古典的 Rac 経路を介し、Ssh-Cofilin 経路依存的な F-actin の再編成に関わり、微小管制御因子と相互作用することで神経軸索伸長を制御するモデルを提唱する。