

(別紙様式1)

平成15年度東北大学21世紀COE特別研究奨励費 研究活動結果報告書

21世紀COE拠点リーダー

鈴木 厚人 殿

(ふりがな) 氏名	キウチノタイ 木内 泰	所属	資格 (いずれかを囲む)
		物理学専攻	COE フェロー・ <u>博士課程</u>
研究課題名	膜ドメインによる神経突起の伸長部位の制御に関する研究		
研究指導者	所属部局	職名	氏名
	理学研究科	教授	大木和夫

## 研究活動結果の概要

研究計画調書に記載した研究目的及び実施計画に対し、その結果・実績について具体的に記載すること。

生体膜のドメイン構造（ラフト）が、神経細胞の突起伸長の過程においてどのように関わっているのか調べるために、当研究室で開発された膜流動性の顕微鏡イメージングシステムを用いて PC12D 細胞の膜流動性の空間分布の観察を行った。PC12D 細胞は、NGF を加えると神経細胞と同様のメカニズムで神経突起を伸ばす。この過程を経時観察した結果、細胞体の縁や突起先端といった突起の伸長が起こる場所には膜流動性の低い領域が存在することが初めて発見された。私は、この膜流動性の低い原因は、その組成から流動性が低いと考えられているラフトが集積しているためと予想し、ラフトの染色を行った。その結果、突起の膜流動性の低い領域は、ラフトの集積地と大部分で一致した。このことから膜流動性の空間分布の時間変化は、ラフトの拡散や集積といった動態を反映していると考えられる。ラフトの動態に関する報告は、まだ少なく、ほとんど分かっていないのが現状である。現在のところ、この膜流動性の空間分布を測定する方法の他にラフトの動態を細胞全体で観察する方法は存在しない。このことから今後、この測定方法は、ラフトの研究において非常に有効な測定手段になると思われる。さらに膜流動性の空間分布の経時観察からラフトの集積地が盛んに動いていることが初めて明らかにされた。しかもその運動は、神経突起の伸長と密接に関連していた。未分化な PC12D 細胞に NGF を加えると細胞の縁の膜流動性の低い領域では、微小な突起が伸びたり縮んだりする。またこの膜流動性の低い領域は、細胞の縁に沿って移動と合併を繰り返した。しかも突起はこの領域から伸び始めた。NGF を加えなくても細胞の縁には膜流動性の低い領域が存在するが、突起は伸びず、かつ細胞の縁に沿った移動は観察されなかった。この細胞の縁の膜流動性の低い領域は、周囲の領域よりラフトの集積度が高い領域と考えられる。生化学的な報告からラフトには、NGF 受容体や NGF の細胞内シグナル伝達に関与する分子が豊富に存在することが知られている。このため突起は膜流動性の低い領域から伸び始めるという観察結果は、この生化学的な知見と矛盾しない。さらに NGF によってこの領域は移動し、合わさることでラフトのさらなる集積を促し、縮まない突起を伸ばすのではないかと推測される。また分化した PC12D 細胞での GP 画像の経時観察から、よく変形する神経突起先端は細胞全体の中で、最も膜流動性の低い領域が存在した。PC12D 細胞は、ラフトの集積地を神経突起先端に局在させることで突起の伸びる場所を限定していると考えられる。PC12D 細胞が十分な長さの神経突起を持つと、細胞体からの新たな突起の伸長は観察されない。しかし、細胞体には NGF 受容体は豊富に存在するためなぜ細胞体から突起が伸びないのか謎であった。本研究で、突起が伸びるのには NGF 受容体だけではなく、その場所の膜流動性が重要、つまりラフトの集積が必要なことが明らかになった。さらに本研究では、神経突起中間部で膜流動性の低い突出構造が移動しているのが観察された。PC12D 細胞は、ラフトの集積地を神経突起先端に輸送することで突起先端の伸長能力を調整しているのではないかと考えられる。突起先端にラフトを送ることで、突起の伸長を促進し、突起先端から奪うことで、伸長能力を落しているのではないかと。さらにどの突起に輸送するかで、伸ばす突起を選択していると考えられる。これらの結果をまとめるとから PC12D 細胞は、ラフトの膜流動性の低い性質を利用して NGF シグナル伝達に必要な分子を留めることで、シグナル伝達の効率化を図り、ラフトを特定の場所に集積させることでシグナル伝達の局在化と突起の伸長場所の決定を行なっていると考えられる。またラフトそのものを輸送することで、突起伸長に必要な分子が輸送中に膜内で拡散するのを防いでいると考えられる。以上のことから本研究によって突起伸長におけるラフトの役割が細胞レベルで明らかになった。

研究発表

(学術雑誌に15年度中に発表または掲載決定したもの、  
および15年度中の学会等での本人の発表)

題目

「神経突起先端には膜流動性の低い領域が局在する：膜流動性の顕微鏡イメージングによる研究」

○木内 泰、大場 哲彦、宮田 英威、大木 和夫

日本生物物理学会、2003年9月23日～25日、新潟