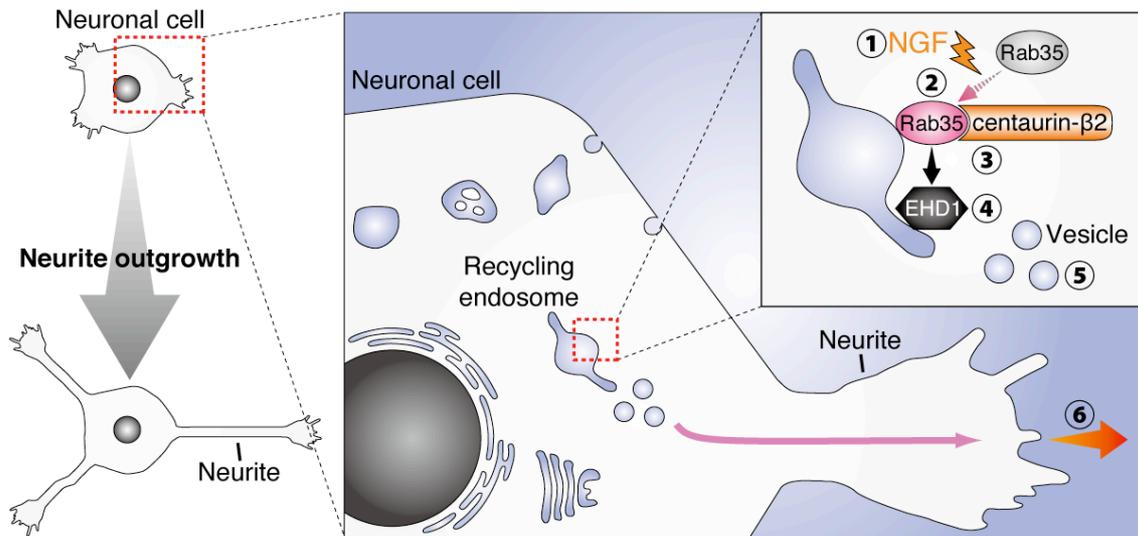


	こばやし ほたか
氏名（本籍地）	小林 穂高
学位の種類	博士（生命科学）
学位記番号	生博第272号
学位授与年月日	平成26年3月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科，専攻	東北大学大学院生命科学研究科 （博士課程）生命機能科学専攻
論文題目	Role of membrane trafficking regulator Rab35 during neurite outgrowth（メンブレントラフィックの制御因子 Rab35 による神経突起伸長メカニズム）
博士論文審査委員	（主査） 教授 福田 光則 教授 水野 健作 教授 八尾 寛

論文内容の要旨

Neurite outgrowth, in which neuronal cells extend protrusive structures called “neurites”, is an essential process for the formation of neural network. Neurite outgrowth requires addition of lipids and proteins to the tip of neurites. Therefore, membrane trafficking, which performs intracellular transport of lipids and proteins from an organelle to another organelle by vesicles, is crucial for neurite outgrowth. However, the precise molecular bases that regulate membrane trafficking during neurite outgrowth are poorly understood. Rab family small GTPases are conserved intracellular molecular switches that regulate membrane trafficking. Rabs cycle between an active form and an inactive form and active Rabs, which localize to specific organelles or vesicles, promote membrane trafficking by recruiting molecules called “effectors”. In this thesis, I report essential roles of Rab35 during neurite outgrowth. I found that Rab35 and its effector centaurin- β 2 regulate nerve growth factor (NGF)-induced neurite outgrowth in PC12 cells (Section I). Rab35 localizes to Arf6-positive recycling endosomes in response to NGF stimulation and recruits centaurin- β 2 to the same compartment, which induces inactivation of Arf6 (Sections II, III). The Arf6 inactivation then promotes association of EHD1 to recycling endosomes, which facilitates formation of transport vesicles presumably to the tip of neurites (Section IV). On the basis of these findings, I suggest a model that Rab35 regulates the intracellular transport from recycling endosomes to neurites for successful neurite outgrowth, which highlights the precise molecular basis for the regulation of membrane trafficking during neurite outgrowth (see Overview Figure).



Overview Figure. Role of membrane trafficking regulator Rab35 during neurite outgrowth. Rab35 localizes to recycling endosomes in response to NGF stimulation and recruits centaurin-β2 to the same compartment (①, ②, ③). The recruitment of centaurin-β2 then promotes association of EHD1 to recycling endosomes, which facilitates formation of transport vesicles presumably to the tip of neurites, for successful neurite outgrowth (④, ⑤, ⑥).

論文審査結果の要旨

我々の高次脳機能を司る神経細胞のネットワークは、神経細胞が神経突起と呼ばれる突起状の構造物を伸長させることで初めて形成される。このため、脳がどのようにして形成され、機能するのかを理解する上で、神経突起伸長メカニズムの解明は重要な研究課題である。神経突起を伸長するためには、神経突起の先端へと脂質膜や接着因子が輸送される必要があることから、細胞内の物質輸送という新しい視点からの研究が近年注目を集めている。しかし、神経突起伸長における細胞内の物質輸送（メンブレントラフィック）の全貌はほとんど明らかになっていない。本博士論文では、膜輸送の普遍的制御因子・低分子量 G タンパク質 Rab に着目し、神経突起伸長に関与する Rab35 の機能解析を通して、神経突起伸長をメンブレントラフィックという視点から分子レベルで理解することを目指した。

まず、神経突起伸長のモデル細胞である PC12 細胞を用いて、神経成長因子（NGF）依存的な神経突起伸長に関与する Rab として Rab35 を同定し、この分子が NGF 刺激によって、核周辺のリサイクリングエンドソームに集積することを明らかにした。

次に、Rab35 がリサイクリングエンドソームへとリクルートするエフェクター分子として centaurin- β 2 と呼ばれる Rab35 結合タンパク質を同定することに成功した。詳細な解析の結果、centaurin- β 2 は Arf6 と呼ばれる因子の活性制御を介して、EHD1 と呼ばれる小胞の形成を担うタンパク質をリサイクリングエンドソームへとリクルートすることが明らかになった。これにより、Rab35 はリサイクリングエンドソームから突起方向への輸送小胞の形成とその後の神経突起伸長を促進するものと考えられた。本研究によって、メンブレントラフィックという視点から神経突起伸長の新規メカニズムが初めて明らかになった。

以上のように、小林氏は神経科学・細胞生物学の研究分野において卓越した研究成果を挙げており、自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有するものと判断できる。したがって、小林穂高氏の提出の論文は、博士（生命科学）の博士論文として合格と認める。