

## 神経細胞の生存シグナル伝達機構の解析

- Akt とNotch による細胞死の抑制 -

後藤 由季子

(東京大学・分子細胞生物学研究所)

### 1. 研究のねらい

神経細胞は発生期に分化を遂げると、そのあと数十年の間生き続ける必要がある。培養条件下では非常に死に易い神経細胞が、生体内ではなぜ生存が維持されているのか、そのメカニズムを知ることが本研究のねらいである。神経生存のメカニズムが明らかになれば、将来的に、神経が死ぬことによって起こる病気（神経変性疾患など）を抑止するのに応用できる可能性がある。さらに本研究では、移植への適用が期待される神経幹細胞（未分化な神経系前駆細胞）の生存促進機構にも迫った。

### 2. 研究結果及び自己評価

#### 研究結果

神経栄養因子など、種々の生存促進刺激による神経細胞の生存促進シグナル伝達において、PI3K-Akt経路が重要な役割を果たしていることが、我々を含む多くのグループから報告されている。そこで本研究では、分化した小脳顆粒細胞などの系を用い、生存促進においてAktの果たす役割について検討した。様々なアポトーシス（プログラム細胞死）のシグナルは、ミトコンドリアからのシトクロームc放出を引き起こす。放出されたシトクロームcはApaf-1/カスパーズ9複合体を活性化し、細胞死の引き金を引くと考えられている。私は、この細胞死開始に中心的な役割を果たすカスパーズ9が、Aktの良い基質になることを見出した。また、invitroの再構成系の実験などから、少なくともAktのリン酸化により、カスパーズ9の活性化に重要なステップであるApaf-1との結合が、阻害されることが示唆された。このことが、結果的にAktによるカスパーズ9活性化阻害に貢献していると考えられる。

Aktによる生存促進において、カスパーズ9だけでなく、他にもターゲットが存在することが様々な状況証拠から予想されている。本研究において、新たに転写因子Nur77がAktのターゲットとなっていることが明らかになった。即ちAktがNur77を直接にリン酸化し、そのDNA結合能、転写活性ならびにアポトーシス誘導活性を抑制することを見いだした。現在、カスパーズ9とNur77のAktによる抑制メカニズムを更に詳細に検討すると共に、Aktの生存促進機構の生理的役割について研究を進めている（図1）。

神経系前駆細胞（神経幹細胞）とは、中枢神経系を構成する神経およびグリア細胞を生み出す能力（多分化能）を持った未分化な細胞集団をいう。増殖能・生存能・未分化状態を保っている（自己複製能）が、その分子メカニズムは明らかではない。本研究では、神経系前駆細胞の生存を促進するシグナル伝達経路の解明を目的とし、マウス胎生11日目の神経上皮細胞の初代培養系を用いて解析を行った。神経系前駆細胞をin vitroで培養する際、FGF2やEGFなどの増殖因子が不可欠であるが、培養系からこれらの増殖因子を除去することによりアポトーシスを観察した。そこでFGF受容体からいかなるシグナル伝達で生存を促進しているかを検討し、Akt経路とそれ以外の生存シグナル伝達が重要であることが明らかになった。増殖因子以外にも、細胞密度依存的な生存促進因子の存在が示唆され、細胞間相互作用に関わる分子Notchの生存促進効果が認められた（図2）。

Notchは、神経系前駆細胞の神経分化抑制に働くことがこれまでに示されていたが、この系における生存促進効果については、本研究で初めて明らかになった。面白いことに、Notchによる神経系前駆細胞の生存促進は、神経分化抑制に使われるRBP-J/Hes経路を用いていないという結果を得た。現在、神経系前駆細胞におけるこれらの生存シグナル伝達の分子メカニズムについて、さらに検討中である（図1）。

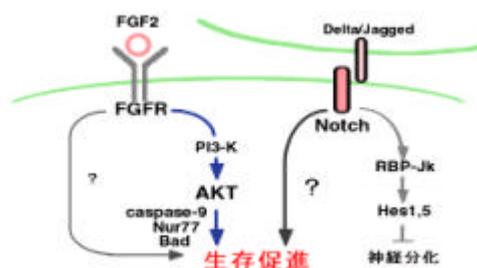
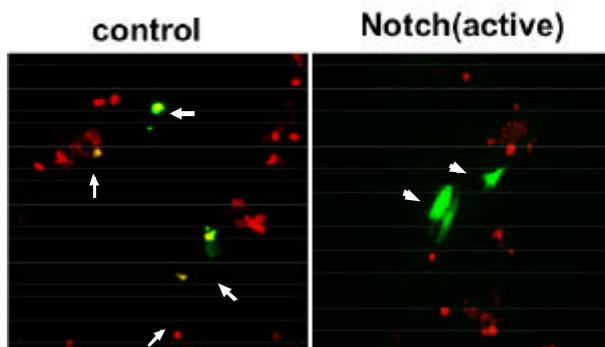


図1 生存シグナル伝達



細胞死誘導条件下では、カスパー3が活性化する（赤は、活性型カスパー3の染色を表す）。しかし、活性型 Notch を発現した右図（矢印、緑）の細胞では、カスパー3の活性型が抑えられており、細胞死が抑制されていることがわかる。

図2 Notch は神経系前駆細胞の生存を促進する

### 自己評価

分化した神経細胞の、神経栄養因子による生存シグナル伝達は、本研究を始めた当時は殆どわかっていなかった。本研究により、神経栄養因子の生存シグナルにおいて中心的な役割を果たすAktの基質が明らかになったことで、具体的な生存メカニズムの解明にほぼ至ったと言える。また、本研究の実行過程で、神経系の細胞死は、実は分化した神経細胞だけでなく神経系前駆細胞に多く起きていることが初めて解明され、神経死研究の大きな転換点となる発見となった。さらに本研究において、具体的に神経系前駆細胞の生存に関わる分子(Notch)を同定することが出来たのも、今後の研究発展につながる重要な点である。

### 3. 領域総括の見解

分化を遂げた神経細胞は数十年の寿命をもっている。しかし、その細胞培養は非常に死に易い。本研究者は、ここで起こる死にアポトーシスとの関連を見出し、カスパー3とAktが関わること、また細胞間相互作用に関わるNotchの関与を見出し、これらが神経細胞への生存シグナルの伝達に働くことを示唆している。精力的に研究を行っていることが窺われるが、いまだ具体的姿には遠いようである。

### 4. 主な論文

1. Masuyama, N., Oishi, K., Mori, Y., Ueno, T., Takahama, Y., and Gotoh, Y. (2001). Akt inhibits the orphan nuclear receptor Nur77 and T cell apoptosis. *J. Biol. Chem.* 276, 32799-32805.
2. Ura, S., Masuyama, N., Graves, J., and Gotoh, Y. (2001). Caspase cleavage of MST1 promotes nuclear translocation and chromatin condensation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98, 10148-10153.
3. Morishima, Y., Gotoh, Y., Barrett, T., Takano, H., Davis, R. J., Shirasaki, Y., and Greenberg, M. E. (2001).  $\beta$ -Amyloid induces neuronal apoptosis via JNK pathway activation and the subsequent induction of Fas ligand. *J. Neurosci.* in press
4. Graves, J. D., Draves, K. E., Gotoh, Y., Krebs, E. G., and Clark, E. A. (2001). Both phosphorylation and caspase-mediated cleavage contribute to regulation of the Ste-20-like Protein Kinase Mst1 during CD95/Fas-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 276, 14909-14915.
5. Ura, S., Masuyama, N., Graves, J., and Gotoh, Y. (2001). MST1-JNK promotes apoptosis via caspase-dependent and -independent pathways. *Genes to Cells* 6, 519-530.

### 5. その他

招待講演 国内 18件 海外 4件