

(様式3号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 徳田 和央

〔題名〕

グルタミン酸による神経前駆細胞誘導時におけるラット*ex vivo*網膜のプロテオーム解析
- DRP-3 long isoformのタンパク質およびmRNA発現の増強 -

〔要旨〕

主要な神経伝達物質であるグルタミン酸は、高等脊椎動物において神経前駆細胞を誘導することが知られている。しかしながら、グルタミン酸による神経前駆細胞の誘導時にどのようなタンパク質がかかわっているかは分かっていない。我々は、神経前駆細胞誘導に関与するタンパク質を同定するため、ラット感覚網膜組織を培養し (*ex vivo*)、プロテオーム解析を行った。Sprague-Dawley系雄性ラットの感覚網膜に1 mMグルタミン酸を1時間添加 (Glu群)し、洗浄後に培養液中で24時間培養したところ、網膜に分裂細胞が出現し、免疫組織染色により神経前駆細胞の存在が確認された。そこで、対照群とGlu群の網膜細胞のタンパク質を2次元電気泳動後に比較し、有意差のあるものを質量分析法で同定した。Glu群では、dihydropyrimidinase-related protein 3 (DRP-3)、DRP-2およびstress-induced-phosphoprotein 1 (STIP1)が上昇していた。更に、DRP-3に関してmRNAの発現を検討したところ、2種類のアイソフォームのうち、長いシークエンスであるisoform 2がGlu群で有意に上昇していた。これらの結果から、グルタミン酸は、細胞周期の制御や神経突起成長にかかわるDRPファミリーや関連タンパク質の発現を上方制御することで、成体ラット網膜に神経前駆細胞を誘導することが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1427 号	氏 名	徳田 和央
論文審査担当者	主査教授	伊藤 浩史	
	副査教授	上山 吉哉	
	副査教授	岡田 康平	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
グルタミン酸による神経前駆細胞誘導時におけるラット <i>ex vivo</i> 網膜のプロテオーム解析 - DRP-3 long isoform のタンパク質および mRNA 発現の増強 -			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Up-regulation of DRP-3 long isoform during the induction of neural progenitor cells by glutamate treatment in the <i>ex vivo</i> rat retina (ラット <i>ex vivo</i> 網膜におけるグルタミン酸による神経前駆細胞誘導では、DRP-3 long isoform が上方制御される)			
掲載雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications 第463巻 第4号 P.593 ~599 (2015年8月掲載)			
(論文審査の要旨)			
<p>主要な神経伝達物質であるグルタミン酸は、高等脊椎動物において神経前駆細胞を誘導することが知られている。しかしながら、グルタミン酸による神経前駆細胞の誘導時にどのようなタンパク質が関与するかはまだ明らかにされていない。申請者らは、ラット感覚網膜細胞 (<i>ex vivo</i>) においてグルタミン酸による神経前駆細胞誘導を行い、誘導時にどのようなタンパク質が関与するか二次元電気泳動に基づくプロテオーム解析を行った。Sprague-Dawley 系雄性ラットの感覚網膜を 1 mM グルタミン酸含む培養液で 1 時間培養 (Glu 群) し、洗浄後に培養液中で全 24 時間培養した。その結果、組織障害なく網膜に分裂細胞が出現し、免疫組織化学染色により神経前駆細胞の存在が確認された。そこで、対照群と Glu 群の網膜細胞のタンパク質を 2 次元電気泳動後に比較し、有意差のあるスポットを質量分析法で同定した。Glu 群では、dihydropyrimidinase-related protein 3 (DRP-3)、DRP-2 および stress-induced-phosphoprotein 1 (STIP1) が上昇していた。更に、DRP-3 に関して mRNA の発現を検討したところ、2 種類のアイソフォームのうち、長いシークエンスである isoform 2 が Glu 群で有意に上昇していた。これらの結果から、グルタミン酸が、細胞周期の制御や神経突起成長にかかわる DRP ファミリーや関連タンパク質の発現を上方制御することで、成体ラット網膜に神経前駆細胞を誘導することが示唆された。</p> <p>本研究は、グルタミン酸により網膜内因性前駆細胞が誘導され、その時に関与するタンパク質群を初めて明らかにしたものであり、将来の網膜再生医療における新たな戦略に寄与する事が期待できる研究と考えられ、学位論文として十分な価値があると認められた。</p>			