

## 平山 未央氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

融合プロテオミクスによるNF1 腫瘍抑制タンパク質の神経系細胞内発現抑制を介した異常シグナル分子群の解析

(Analysis of abnormal cellular signals via silencing of NF1 tumor suppressor protein in neuronal cells by integrated proteomics)

神経線維腫症 I 型 (NF1) は多発性神経線維腫や色素斑を始め多彩な病態を呈す常染色体優性遺伝性疾患である。NF1 の原因遺伝子産物 Neurofibromin は Ras-GAP 相同領域を有しているが、Ras-GAP の機能のみでは NF1 の多様な病態を説明できず、NF1 の病態発症機構は未だ不明な点が多い。本研究では、NF1 病態モデル PC12 細胞を用いて、独自の融合的 mRNA/タンパク質網羅的発現解析 (融合プロテオミクス) を行うことで Neurofibromin の細胞内機能とその欠損による神経系細胞異常分化・増殖機構の解明を目的とした。

方法として、PC12 細胞に RNA 干渉法によって NF1 遺伝子発現を抑制した NF1 病態モデルを作成した。本モデルを用いて、神経成長因子 (NGF) 添加による神経細胞様分化過程における経時的遺伝子およびタンパク質の発現変動を、DNA array 法、蛍光標識二次元ディファレンシャル電気泳動法 (2D-DIGE)、および iTRAQ (isobaric tags for relative and absolute quantitation) 法を用いて網羅的に解析した。得られた全データを iPEACH によって統合し、分子間ネットワーク解析を行った。

本研究の結果として、NF1 病態モデル細胞では神経突起の伸長阻害という特徴的な表現型が見られた。NF1 siRNA 処理によって Dynein intermediate chain 2 (IC2)、glucocorticoid receptor (GR)、cyclooxygenase 21 (COX-1) を含む一連のシグナルネットワークが有意に発現上昇していた。次に NF1 病態モデル細胞において GR アンタゴニスト、Dynein IC2 siRNA、COX-1 siRNA により本経路の構成分子の発現や機能を阻害したところ、Dynein IC2 が GR の核輸送に関与しており、核移行した GR が転写因子として機能する結果、COX-1 の転写が誘導されていることが判明した。さらに、NF1 欠損 PC12 細胞において本経路の最下流因子である COX-1 の発現を抑制したところ、神経突起伸長阻害が回復し、分化異常が正常化することが判明した。

公開審査では、(1) 一般的な NF1 病態モデル、(2) NF1 病態モデル細胞の細胞増殖、(3) 神経突起伸長のシグナル系、(4) Dynein IC2 のリン酸化、(5) Neurofibromin の生理的機能、(6) 神経における GR の機能、(7) Ras GAP 以外の Neurofibromin の機能、(8) Ras シグナル系と GR、COX-1 との関係、などについて活発な質疑が行われ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、NF1 病態モデル細胞において特異的に亢進する新規分子ネットワークを発見し、NF1 病態発症メカニズムの一端を明らかにしたものであり、新たな治療法の開発に貢献できるものとして高く評価される。

審査委員長 細胞情報薬理学担当教授

中西 宏之