

Anosmin-1 inhibits RGMa and Netrin-1 signaling through Neogenin to prevent the growth cone collapse

竹内 祥人¹, 北河博紀¹, 吉田亜佑美¹, 浅野 弘嗣², 清水 昭男², 岡本沙矢香³, 瀬尾 美鈴^{1,2}

¹京産大院 工学 生物工学,²京産大 総合生命 生命システム,³広大 薬

目的：本研究は、**Anosmin-1** が可溶性受容体として働き、**Neogenin** へのリガンド (**RGMa**, **Netrin-1**) の結合を阻害することで成長円錐の形成を促進するという仮説を検証する。

研究背景：カルマン症候群 (**KS**) は、嗅覚低下・消失、低ゴナドトロピン性性腺機能低下を伴う先天性疾患であり、**Anosmin-1** をコードする **KAL-1** 遺伝子の変異が原因である。**Anosmin-1** は、フィブロネクチン III 繰り返し構造を持つ細胞外分泌タンパク質であり誘因性軸索ガイダンス分子様作用を持つことが報告されているが、その機構の詳細はほとんど不明である。我々は、これまでに **Anosmin-1** が神経成長円錐の形成を促進することを明らかにした。**Anosmin-1** のタンパク質ホモロジー検索から、成長円錐崩壊を誘導する受容体である **Neogenin** の細胞外領域と約 **40%**の相同性を持っていることを見いだした。

実験手法と結果：**PC12** に **FGFR1** を過剰発現させた細胞 (**PC12R1**) に、**FGF2** を添加し神経突起を伸長させて成長円錐崩壊アッセイを行った (成長円錐の形態撮影および面積測定)。**Netrin-1** は **PC12R1** の成長円錐を崩壊させた。**Netrin-1** とその受容体である **Neogenin** の結合を阻害する可溶性 **Neogenin** は、**Netrin-1** による成長円錐崩壊を抑制した。**Neogenin** の細胞外領域と相同性を持つ **Anosmin-1** は、**Netrin-1** による成長円錐崩壊を抑制した。共免疫沈降法によって **Netrin-1** は **Anosmin-1** と直接結合することが示された。**Neogenin** を受容体として作用する別の反発性軸索ガイダンス分子 **RGMa** も、**PC12R1** の成長円錐を崩壊させた。可溶性 **Neogenin** および **Anosmin-1** は、**RGMa** によって誘導された成長円錐崩壊を抑制した。**RGMa** は、**PC12R1** の **Rac1** を不活性化させその下流シグナル分子である **cofilin** を脱リン酸化(活性化)させた。**Anosmin-1** は、**RGMa** による **Rac1** の不活性化を阻害し、**cofilin** の脱リン酸化を誘導しなかった。**Netrin-1** も同様に **cofilin** を脱リン酸化(活性化)させ、**Anosmin-1** は **Netrin-1** による **cofilin** の脱リン酸化を阻害した。**Netrin-1** と **RGMa** の共存在下において、**PC12R1** の成長円錐崩壊は引き起こされた。独立したリガンドによって誘導された成長円錐崩壊は **Anosmin-1** によって阻害された。

結論：**Netrin-1** と **RGMa** は **Neogenin** を介してシグナルを伝達し、**Rac1** を不活性化し **cofilin** を活性化することによってアクチン線維の脱重合を引き起こす結果成長円錐の崩壊が引き起こされることが示された。**Anosmin-1** の誘因性軸索ガイダンス分子様作用は、**Neogenin** に対して可溶性受容体として働き、**RGMa** と **Netrin-1** の結合を阻害することで成長円錐の形成を促進することに起因することが示唆された。

