

氏 名	いの 猪 子 あき ひと 人
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2875 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 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	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Identification of trichoplein, a novel keratin filament-binding protein (ケラチンフィラメントに結合する新規な蛋白質「トリコブレイン」の同定)

(主 査)
論文調査委員 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 永 田 和 宏 教 授 宮 地 良 樹

論 文 内 容 の 要 旨

keratin8 と18は中間径フィラメントとよばれる細胞骨格の代表的な構成単位である。それらはヘテロで重合してフィラメントを形成する。その発現は単層上皮に特異的である。また, keratin filament は細胞間接着装置では desmosome にアンカリングされることが知られている。

keratin は上皮細胞で非常に豊富に発現しているにも関わらず, そのファミリー分子の多さから機能解析は詳細には進んでいなかった。そのため, keratin 結合蛋白質に着目しこれを同定, 解析することから keratin の機能解析につなげることができると考えられた。現在既知の keratin 結合蛋白質としては, desmosome に局在する構造蛋白質やアポトーシス関連分子, シャペロン蛋白など数10種類ある。当初 keratin filament の役割は機械的ストレスに耐えることと考えられていたが, 上述のような結果から keratin はアポトーシスをはじめ様々な細胞内現象に介在していると現在では考えられている。

当申請者は, keratin に結合する新規な蛋白質として trichoplein を同定した。はじめに trichoplein は keratin18 を bait にした yeast two-hybrid 法で liver のライブラリーよりクローニングされた。アミノ酸配列上は coiled-coil domain を含み, trichohyalin および plectin (共に既知の keratin 結合蛋白質) と数10%の相同性を持っていた。in vitro の結合実験では trichoplein は keratin と特異的に結合し, 非上皮の中間径フィラメントおよび actin, tubulin とは結合しないことを確認した。さらに作成された抗 trichoplein 抗体による解析を行ったところ, immunoblotting では 61kDa のシングルバンドを認め, cDNA からの予測値と一致した。培養上皮での免疫染色では trichoplein は keratin filament の上でドット状に共局在を示し, さらに desmosome への局在を示した。また, trichoplein の分布には明らかに apical 寄りの極性が見られ, keratin の分布とよく相関した。このことは小腸組織切片においても確認された。種々の組織染色の結果からは, trichoplein は上皮だけでなく血管内皮にも存在することが示唆された。

このような trichoplein の特性は, keratin 結合蛋白質としては既存にはないドット状の共局在を示し, かつ desmosome への局在パターンを示すこと, さらに組織学的には上皮および内皮に特異的に発現することにある。そのことで何らかの特異的な機能を有していることが示唆される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者がテーマとする keratin は中間径フィラメントとよばれる細胞骨格の構成単位である。単層上皮では keratin のサブタイプのうち8と18がヘテロで重合し, filament を形成する。また, keratin filament は desmosome にアンカリングされる。keratin の機能は主には機械的ストレスに耐えることと言われているが, keratin はサブタイプが多く, その解析が困難であった。そのため申請者は, keratin を解析する新たな手段として keratin に結合する蛋白質の検索を行った。その際, keratin8 を bait に yeast two-hybrid 法を用いた。

その結果, 申請者は trichoplein を同定した。trichoplein の特性は in vitro で keratin と結合すること, keratin filament

上でドット状の局在を示し、かつ desmosome への局在パターンを示すこと、さらに組織学的には上皮および内皮に特異的に発現することに見出された。それにより、trichoplein は keratin filament にとって何らかの特異的な機能を有していることが示唆された。

以上の研究は keratin filament という細胞骨格の機能解析において新たな可能性を見出したという点で貢献しており、細胞レベルで基礎医学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成17年3月2日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。