

氏 名	いし かわ ひろ あき 石 川 裕 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2896 号
学位授与の日付	平 成 17 年 5 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	Odf2/cenexin - deficient mother centrioles lack the distal/subdistal appendages and the ability to generate primary cilia (Odf2/cenexin を欠いた母中心小体は遠位突起構造とプライマリーシリア形成能を欠く)
論文調査委員	(主 査) 教 授 永 田 和 宏 教 授 松 本 智 裕 教 授 塩 田 浩 平

論 文 内 容 の 要 旨

中心体は1回の細胞周期で半保存的に複製され、動物細胞においては主な微小管形成中心である。中心体は主に一对の中心小体(母中心小体, 娘中心小体)とそれを取り囲む中心体マトリックスから成り立っている。中心小体は主として三つ組の微小管が9つより成る円筒状の構造物である。母中心小体には遠位側に電子顕微鏡下で確認できる突起構造がついており、娘中心小体と区別される。中心体についてはその機能、構成タンパク質なども含め、分子レベルで不明な点も多い。なかでも母中心小体の遠位突起構造についてはその生理的な機能については明らかにされていないのが現状である。

母中心小体の遠位突起構造には今までに Odf2 (outer dense fiber 2), ninein, ϵ -tubulin, centriolin といったタンパク質が局在することが明らかになっている。しかし、Odf2以外のタンパク質は中心小体の基部側など、中心体内で母中心小体の遠位突起構造以外にも局在することが知られている。また、これらのタンパク質の発現を抑えると中心小体の複製や、細胞分裂を完了することができなくなり、生存できなくなることが報告されている。

Odf2 は母中心小体の遠位突起構造へのみ特異的に局在するので、母中心小体の遠位突起構造の機能を調べるのに有用であると考え、Odf2 遺伝子を相同組み換えによって欠失させた Odf2 欠失細胞を作製した。Odf2 欠失細胞は他の母中心小体の遠位突起構造構成タンパク質の発現を抑制した場合とは異なり、細胞周期や細胞増殖は正常であった。Odf2 欠失細胞において母中心小体の遠位突起構造を調べるために、ninein と centriolin の局在を免疫蛍光法により確認したところ、これらタンパク質の母中心小体の遠位突起構造への局在が消失していた。さらに詳細に調べるために、透過型電子顕微鏡による超薄連続切片の観察をおこなったところ、Odf2 欠失細胞では母中心小体の遠位突起構造は観察されなかった。

母中心小体は間期にプライマリーシリアを形成することが知られているので、この Odf2 欠失細胞においてプライマリーシリアが形成されているか、プライマリーシリアのマーカーを用いて免疫蛍光法により確認した。プライマリーシリアは血球系を除く多くの体細胞に見られる細胞小器官で、細胞外からの機械的刺激や化学的刺激を感知する機能を持つことが近年報告されている。野生型の細胞では25%程度の細胞にプライマリーシリアが観察されたが、Odf2 欠失細胞ではプライマリーシリアを確認することができなかった。また、Odf2 欠失細胞に Odf2 遺伝子を強制発現させるとプライマリーシリアの形成が回復した。

以上の結果より、Odf2は母中心小体の遠位突起構造の形成または維持に重要であるとともにプライマリーシリア形成においても不可欠なものであることが示された。また、母中心小体の遠位突起構造はプライマリーシリア形成に関与していることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

中心体は微小管の形成中心であるだけでなく、細胞周期の制御にも関わっていることが示される重要な細胞内小器官であるが、その機能、構成タンパク質なども含め、分子レベルで不明な点も多い。なかでも母中心小体の遠位突起構造について

はその生理的な機能については明らかにされていないのが現状である。本研究では、母中心小体の遠位突起構造の機能を調べるために、遠位突起構造に局在する Odf2 の遺伝子を相同組み換えによって欠失させた Odf2 欠失細胞を作製した。Odf2 欠失細胞は細胞周期や細胞増殖は正常であった。免疫蛍光染色、電子顕微鏡による解析により Odf2 欠失細胞は母中心小体の遠位突起構造を形成していないことが示された。また、母中心小体は間期にプライマリーシリアを形成することが知られているので、この Odf2 欠失細胞においてプライマリーシリアが形成されているか、プライマリーシリアのマーカーを用いて免疫蛍光法により確認した。野生型の細胞では25%程度の細胞にプライマリーシリアが観察されたが、Odf2 欠失細胞ではプライマリーシリアを確認することができなかった。また、Odf2 欠失細胞に Odf2 遺伝子を強制発現させるとプライマリーシリアの形成が回復した。

以上の研究は、解析の進んでいない中心体のプライマリーシリア形成の解明に貢献し、そして将来的にはプライマリーシリア形成不全における病態の解明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4月27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。