

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 市川 智光

副腎皮質細胞や脳アストロサイトはステロイドホルモンを合成しているが、材料となるコレステロールを細胞内に取り込んでリソソームまで輸送する LDL を含むエンドソームのダイナミックな輸送過程には多くの不明な点が残されており、詳細な研究が必要とされていた。

本論文「Real time digital fluorescence imaging analysis of trafficking of endosomes containing lipoproteins: リポタンパク質を含んだエンドソーム輸送の実時間可視化解析」は、蛍光標識した低密度リポタンパク質 (LDL) を含む多数のエンドソームを高感度蛍光ビデオ顕微解析システムにより実時間で追跡し、単一エンドソーム追跡法を用いて細胞内コレステロール輸送の過程を定量的に解析した。その結果、副腎皮質細胞、及びアストロサイトに於いて微小管上を滑走するコレステロールの細胞内での輸送動態を詳細に明らかにした。

本論文の第 1 章では、副腎ステロイドホルモンを合成するウシ副腎皮質初代培養細胞を用い、単一エンドソーム追跡法によってエンドソームの細胞内運動を定量的に解析した。その結果、細胞核方向、細胞周辺方向への運動を担う 2 種のモータータンパク質、細胞質ダイニン、キネシン様タンパク質が同一のエンドソームに結合していることによりエンドソームが頻繁に前進/後退/停止を繰り返しながら運動すること、そして全体としては 3 時間で細胞核周辺部へ集合していく輸送形態を初めて明らかにした。次に、濃度 100 pM の ACTH 刺激により、LDL エンドソームの輸送は促進され、通常 3 時間必要とされる核周辺部への集合が、1 時間で完了することを初めて発見した。さらに ACTH 刺激によって発生する細胞内 Ca^{2+} 信号がエンドソームの集合促進に必要であることも初めて示した。ホルモン刺激によって生じる細胞内情報伝達物質がエンドソームの輸送過程を調節することを示唆する報告はこれまでになく、本論文によって初めて示されたものである。

本論文の第 2 章では、神経ステロイドを合成するラット脳星状グリア細胞(アストロサイ

ト)の初代培養系を用い、単一エンドソーム追跡法によってエンドソームの細胞内運動を定量的に解析した。その結果、エンドソームが微小管上を頻繁に前進/後退/停止を繰り返しながら運動すること、全体としては6時間で細胞核周辺部へ集合していく輸送形態を初めて明らかにした。また、前進/後退運動によって生じるエンドソームの細胞核方向、細胞周辺方向への運動は2種のモータータンパク質、細胞質ダイニン、キネシン様タンパク質が同一のエンドソームに結合していることにより担われていることを示唆する結果を得た。脳グリア細胞のコレステロール輸送の研究は世界的に見てこれまで無く、脳細胞の細胞生物学に新しい知見を与えた。

以上を要約すると、本研究は論文提出者によって確立された、LDLを含む多数のエンドソームを実時間で追跡し、精密に解析するシステムを用い、副腎皮質細胞とアストロサイト内のコレステロール輸送を担うエンドソームの輸送動態を詳細に明らかにした。この結果、副腎皮質細胞においてはACTHがエンドソームの輸送を促進するという効果を発見し、アストロサイトにおいては脳グリア細胞での細胞内コレステロール輸送の過程を初めて示した。これらの結果は細胞生物物理学上、非常に有意義な貢献をしたものと認められる。

よって審査委員一同、論文提出者市川智光は東京大学博士(学術)の学位を受けるに十分な資格があるものと認めた。なお、本論文の内容は2000年にBiochemical and Biophysical Research Communications誌に公表済みである。これは共著論文であるが、論文提出者はそのすべてにおいて研究の主要部分に寄与したものであることを確認した。