

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 徐 瓔

本論文は細胞内物質輸送や細胞分裂において膜状小胞、染色体や細胞内小器官の輸送をになうキネシン類似蛋白群分子(KIFC3)について、

- 1) 相同時的遺伝子組み換え法を用いて kifC3 遺伝子欠失マウスを作製しました。
- 2) 個体レベルでの KIFC3 の役割、及び細胞内での分子機能を解析しました。

その結果、下記の新しい事実が判明した。

1. KIFC3 分子とステロイドホルモン分泌調節の関係

KIFC3 分子は精巣、副腎皮質、卵巣、卵黄嚢、レンズなどコレステロールを多く含み、主としてステロイドホルモンを産生する臓器に多く発現している事が分かった。KifC3 遺伝子欠失マウスが、コルチコステロイド濃度を測定すると、午前中でホモにおける濃度が野生型の 3 倍の高値を示し、統計的にも有意であった。日内変動のリズムはホモで保たれており、ACTH の濃度にも有意な差は認められなかった。しかしながら、ACTH によるコルチコステロイド分泌刺激試験を行うと、ホモでは著しく高い反応性(正常値の 10 倍位)を示した。そこで細胞内機構はどう説明できるであろうか。KIFC3 のホモと野生型で DNA microarray を用いた解析を行い野生型に比べて mRNA の量が増えている遺伝子、減っている遺伝子をまとめた。この中でプロテインキナーゼ A(PKA)の転写産物は野生型の約 2.4 倍に増えており、Gi のそれは著しく低下していた。さらに、PKA の活性も有意な差は認められました。脂質の取込みがホモで正常であった実験事実を考え合わせると、細胞内情報伝達系に KIFC3 分子が深く関与していると考えられ、KIFC ファミリーの重要な機能の一端を明らかにしたといえる。

2. KIFC3 とコレステロールはゴルジ体の位置と一体性を決める

通常、ゴルジ体は細胞内の微小管が作る放射状のネットワークの中心、微小管形成中心 (MTOC) 付近にある。培養副腎皮質細胞のゴルジ体はウシ胎仔血清 (FCS) を 10% 添加した培地で正常細胞と KIFC3 欠失細胞を培養すると、両者は形態的に区別できず MTOC 近傍に集積したゴルジ体構造を示した。しかしコレステロールを欠損させた培地(lipoprotein depleted serum, LPDS)でこれを培養す

ると、KIFC3 欠失細胞のゴルジ体は層状構造を保ちながらも大きな断片に分かれ、集積しなかった。断片どうしが互いに連絡していないことは蛍光消退回復法(FRAP)による解析で確かめられた。この変化は可逆的で、コレステロールを培地に加えることで元の形態に戻った。以上の結果から kifC3 はコレステロール欠乏状態においてゴルジ装置の位置決定と、1 体化のために必要であることが分かった。次にこの表現型の分子メカニズムを明らかにするため、このゴルジ体の断片化が微小管に沿った一端方向の輸送の障害によるものかどうかを検討したところ、(1) ゴルジ体の位置と形態統合性は単純に微小管の一端方向の輸送のみによって達成されているのではなく + 端方向と一端方向の複数のモーター分子輸送の平衡の上に成り立っていること及び (2) KIFC3 欠失細胞の異常は一方向の輸送が大きく減少しこの平衡が乱されたためであることが示された。ところで、コレステロールが存在するときは KIFC3 がなくてもゴルジ体は集合することができる。すると KIFC3 は何故コレステロール欠乏時には必要なのだろうか。また、ゴルジ体については一方向のモーターである細胞質ダイニンをノックアウトした細胞でも断片化が起こることが報告されている。そこで、コレステロール、ダイニンと KIFC3 の関係を調べた。ダイニンがコレステロール欠乏時には膜結合成分から細胞質プールに移動したのに対し、KIFC3 の分布は培養条件により変化しなかった。つまり、KIFC3 欠失細胞の異常がコレステロール欠乏下においてのみ顕在化するのには、通常その機能を補償しているダイニンの膜小胞へのコレステロールによる係留が解除されるからであると考えられる。以上の結果から、ゴルジ体の位置決定と、一体化のメカニズムについて以下の点が明らかになった。

1. ゴルジ体の位置決定には、ER からゴルジ体への小胞輸送とは独立の機構が存在し、KIFC3 は後者にのみ関与する。

2. ゴルジ体の位置決定とそれに続く 1 体化は KIFC3 を含む少なくとも 2 個以上の一方向のモーター分子と、1 つ以上の + 方向のモーター分子というによって決定される。

3. ダイニンの膜への結合はコレステロールによって制御されており、コレステロール量が減少すると膜からダイニンが解離するため、kifC3 がゴルジ体の一方向への集積に必須となると考えられる。

以上、本論文は細胞内物質輸送や細胞分裂の機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。