

論文審査の結果の要旨

氏名 岡 雄一郎

げっ歯類において嗅覚受容体をコードする遺伝子はおよそ 1000 種類にのぼり、ほぼ全ての染色体上にクラスターをなして存在している。個々の嗅神経細胞は約 1000 種類の遺伝子の中から、1 種類のみを mono-allelic に発現している。ここで、特定の嗅覚受容体遺伝子は、嗅上皮の 4 つのゾーンの内の一つでのみ発現し、ゾーン内ではランダムに散在するといわれている。嗅神経細胞はその軸索を脳の最前部に位置する嗅球に投射し、投射先には糸球という構造体が形成されて 2 次ニューロンとシナプスを作っている。この際、同種の嗅覚受容体を発現する嗅神経細胞は定まった糸球にその軸索を集中させることが知られている。一般に、糸球の嗅球上での位置は、嗅上皮上で細胞体が位置するゾーンと対応する領域にある、即ち、嗅上皮から嗅球への投射には zone-to-zone の対応があると言われている。しかしながら、嗅上皮での嗅覚受容体遺伝子のゾーン特異的な発現や、嗅神経細胞の嗅球へのゾーン特異的な投射を規定する分子機構などについてはほとんど解明されていない。本研究では、ゾーンの持つ生物学的意味を明らかにする目的で、嗅上皮でゾーン特異的に発現する遺伝子群を探索した。

本研究では、ラットの嗅上皮の最も背内側の領域(ゾーン 1)と最も腹外側の領域(ゾーン 4)で発現する遺伝子を differential display (DD) 法で比較し、ゾーン 1 で特異的に発現する新規遺伝子 *o-macs* を同定し、この遺伝子について詳細に解析した。ラット *o-macs* 遺伝子は、580 アミノ酸からなるタンパク質をコードし、その推定アミノ酸配列はマウスの中鎖アシル CoA シンセターゼ (medium-chain acyl-CoA synthetase, MACS) ・ファミリーと 56-63% の相同性を示した。また、*o-macs* 遺伝子はマウスゲノムでは第 7 番染色体の 7F1 領域にあり、この領域には *o-macs* を含む MACS ファミリーの遺伝子のすべてがタンデムに並んでいることが判明した。これら 5 つの MACS ファミリー遺伝子は、進化の過程で、遺伝子重複によって形成されたものと考えられる。RT-PCR による解析の結果、*o-macs* 以外の MACS ファミリーの遺伝子は主として肝臓と腎臓で発現するが、*o-macs* 遺伝子は嗅上皮でのみ特異的に発現しており、他の MACS ファミリー遺伝子の中で、嗅上皮に発現するものはないことが明らかになった。*o-macs* 遺伝子の嗅上皮での発現は 4 つのゾーンのうちゾーン 1 に限局した。*o-macs* 遺伝子の発現は、嗅覚受容体遺伝子を発現する嗅神経細胞層のみならず、支持細胞層、基底細胞層および lamina propria にも認められ、ゾーン 1 の全体に発現していた。

嗅上皮の発生過程におけるゾーン形成の時期を解析するため、*o-macs* 遺伝子の胎生期における発現を解析したところ、ラットの胎生 11.5 日目においてゾーン特異的に発現していた。この結果から、嗅上皮のゾーンの決定は嗅覚受容体遺伝子の発現が始まる以前の、嗅原基の段階ですでに起こっているものと推定できる。本研究では次に O-MACS タンパク質の細胞内での機能を解析する目的で、エピトープタグ付の O-MACS タンパク質を精製し、そのアシル CoA シンセターゼ活性を測定した。その結果、O-MACS タンパク質は炭素鎖長 6 から 12 までの脂肪酸に反応することが示された。次に、O-MACS タンパク質の細胞内局在を調べたところ、O-MACS タンパク質はミトコンドリアに局在することが判明した。O-MACS と反応性を示す脂肪酸をラットに匂い分子として与えると、ゾーン 1 に位置する糸球を活性化することが報告されているので、O-MACS は嗅上皮に匂い分子として取り込まれた脂肪酸のプロセッシングに関与する可能性が考えられる。

本学位申請論文は、嗅上皮でゾーン特異的に発現する新規の中鎖アシル CoA シンセターゼ O-MACS の同定と、その発現解析および生化学的な解析を行ったもので、その内容は欧州生化学会誌に公表されることが決定している。本研究は複数の同僚との共同研究であるが、その実験計画と主要部分の解析は論文提出者自身によるものであり、その寄与は十分であると判断される。特に、本研究で同定された O-MACS は新たな zonal marker として、嗅上皮のゾーン形成や嗅覚受容体遺伝子の発現制御のメカニズムの解明に道を拓くものとして評価されるべきものである。

審査会においての質疑応答は多岐にわたり、必要な部分は学位論文の最終稿に反映されている。

以上の結果から、博士(理学)の学位を授与できると認める。