

## 論文の内容の要旨

### 論文題目 : Genetic Study of Kinesin Superfamily Protein, KIF13B

和訳 : キネシンスーパーファミリー蛋白 KIF13B の分子遺伝学的研究

指導教官 : 廣川 信隆 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成15年4月 入学

医学博士課程

分子細胞生物学専攻

氏名 : 王 大亮

### 概要

キネシンスーパーファミリー (KIFs) は微小管をレールとしてカーゴ (貨物) を輸送する分子モーター群である。その中の1つである KIF13B の生体内での機能を解析するために、KIF13B 遺伝子欠損マウスを作成した。KIF13B は他の臓器と比べ肝臓で非常に発現が多く、肝臓では肝細胞の血管に接した細胞膜直下に局在した。KIF13B ノックアウトマウスは、肝臓において脂肪の蓄積がみられ、さらに高コレステロール血症を示した。これらのことから KIF13B 欠損マウスは脂肪肝を呈し、KIF13B が肝臓における脂肪代謝に重要な役割を任っていることが示唆された。

## 序論

細胞ではタンパク質の多くは細胞体で合成され、それらが必要とされる場所に運ばれる。キネシンスーパーファミリータンパク (KIF) は微小管をレールとして ATP をエネルギー源として細胞内で物質を輸送する分子モーター群であり、私たちの研究室を中心に 40 種類以上の KIF が同定されてきた。本研究ではこの KIF タンパク群の中の 1 つである KIF13B に注目し、KIF13B 遺伝子欠損マウスを作成・解析することで、KIF13B の分子レベルから個体レベルに渡った解析を行った。

通常、肝臓は重量あたり 2-4% 程度の脂肪を含む。これには中性脂肪、リン脂質、脂肪酸さらにコレステロールなどが含まれる。脂肪肝は脂肪が肝重量の 5% 以上、あるいは肝細胞の 30% 以上に脂肪が蓄積した状態を指し、主として糖尿病、肥満、アルコール、薬剤、高脂血症などでみられる。単純な脂肪肝は良性疾患だが、時に肝線維化、肝硬変、さらに肝臓に進展することもあり、脂肪肝の発症メカニズムを解明することは大変重要である。

本研究では KIF13B が肝臓でとりわけ多く発現していることを見いだした。また、KIF13B の欠損マウスは肝臓に脂肪が蓄積し、高コレステロール血症を示した。したがって、KIF13B 遺伝子欠失マウスは脂肪肝を発症していると考えられ、その解析を通じて、KIF13B の生体内での機能についての知見を得ようと試みた。

## 方法と結果

### 【KIF13B に対する抗体の作製と KIF13B の肝臓における局在を観察】

キネシンスーパーファミリータンパクとして 40 種類の KIF が同定されてきたが、これらは 15 種類のサブファミリー (Kinesin1-13, 14A と 14B ファミリ) に分類される。KIF13B はこのうちの Kinesin 3 ファミリに属し、1826 アミノ酸から成り、SDS-PAGE で約 250kDa のバンドとしてみられる。まず KIF13B の中央部と C 末端のアミノ酸配列の合成ペプチドを用いて KIF13B に対する抗体を作製し、各種臓器における KIF13B の発現を調べた。KIF13B は肝臓、精巣、卵巣などで発現が高かったが、脳、心臓、脾臓では少なかった。さらに KIF13B の局在を肝臓について調べたところ、KIF13B は肝細胞の血管に接した細胞膜の直

下の部位に限局していた(図 1)。

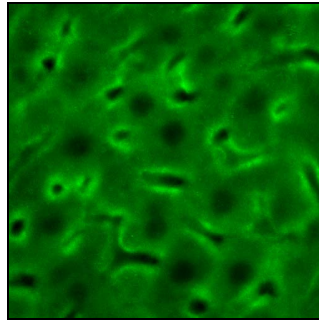


図 1. 野生型マウスの肝臓における KIF13 の局在。KIF13 は肝細胞の血管に接した細胞膜の直下の部位に限局していた。

#### 【KIF13B 欠損マウスの作製と解析】

次にジーンターゲットングの手法を用いて KIF13B 遺伝子欠損マウスを作成した。KIF13B 欠損マウスは外見上目立った異常は見られず、野生型マウスと同様に成獣になった。しかし、KIF13B 欠損マウスの肝臓では肝細胞中にさまざまな大きさの脂肪滴がみられた(図 2)。血中 GPT, A/G 比などの値が正常だったことからノックアウトマウスの肝機能に大きな障害はみられなかったが、1 年齢以上のマウスの肝細胞で高度の脂肪沈着を含む細胞変性が認められた。さらに KIF13B 欠損マウスは高脂肪飼料による脂肪負荷に対し野生型マウスより脂肪肝になりやすく、野生型マウスより血清コレステロールの値も高かった。

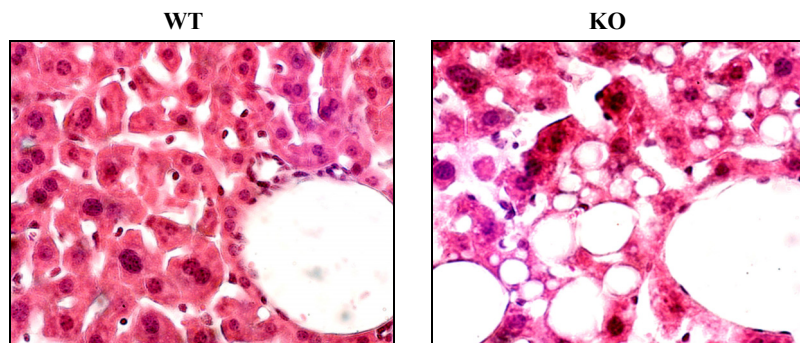


図 2. KIF13B 欠損マウスの肝臓における脂肪滴の蓄積。

### 【KIF13B の運ぶカーゴの探索】

KIF13B 欠損マウスは野生型マウスと比べ摂食量に差がみられなかったことから、この脂肪肝は肝臓における脂質代謝に障害があるためだと考えられた。現在 KIF13B 欠損マウスの肝臓のさらなる解析とともに KIF13B が運ぶカーゴの同定を行っている。

### 結論

1. KIF13B は肝臓での発現が非常に多い。
2. KIF13B は肝細胞の血管に接する細胞膜の直下に局在する。
3. KIF13B 欠損マウスは脂肪肝になる。