

## 審査の結果の要旨

氏名 田島 卓実

本論文は 6 章構成となっており、I 型コラーゲンの線維形態を司る蛋白質 Osteomodulin(OMD)の制御機構を物理化学的手法及び形態学的手法に着目し、それぞれの章で記述している。

第 1 章においては I 型コラーゲン線維形態制御に関わる背景及び問題点、研究の目的が述べられている。I 型コラーゲンは我々の生体内を構成する蛋白質の中で最も多く存在し、その主要な機能は組織強度の支持や細胞に適切なシグナル伝達を行うことである。I 型コラーゲンの特徴として単量体ではなく、重合した線維で機能を果たすことが知られている。また、この線維形態は各組織で異なる幅や形態を示し、その違いが組織特有の強度や細胞へのシグナル伝達に強く影響を与えていることが明らかになりつつある。この異なる線維形態の制御蛋白質の一つとして本論文で取り扱った **Small leucine rich repeat proteoglycans (SLRPs)**が存在する。しかしながら、その制御機構はほとんど明らかにされておらず、本論文ではその分子機構を解明するために **SLRPs** の一種である **OMD** を用いて解析を行っている。

第 2 章においては **OMD** と I 型コラーゲンの詳細な物性解析を行い、各蛋白質の性質を明らかにしている。**OMD** においては結晶構造解析まで行っており、分子としての性質を詳細に記述することができている。またコラーゲンにおいては線維形成反応の条件を変化させることで線維形成に必要な条件を明確に示すことができ、その後の実験系構築において重要な情報の取得に成功している。

第 3 章においては **OMD** がコラーゲン線維形成や構造に及ぼす影響を *in vitro*, *in vivo* の観点から明らかにしている。*In vitro* においては **OMD** がコラーゲン線維幅を均一に細くし、直線的な線維形成に寄与していた。さらにその線維は温度変化に対し、より安定に存在していた。また、*in vivo* 解析においては、マウスの骨のコラーゲン線維幅が **OMD** 欠損マウスよりも野生型マウスの方が細い結果となった。この結果は *in vitro* の結果と一致し、**OMD** がコラーゲン線維の幅や形状といった“質”を制御していることが明確に示す結果となった。

第 4 章においては **OMD** が持つ制御能の分子メカニズムを **OMD** とコラーゲ

ン分子及び線維との相互作用解析から記述している。表面プラズモン共鳴法と免疫電顕法より OMD はコラーゲンの分子及び線維に結合できることが証明された。また、OMD はコラーゲン分子に対して非常に早い結合反応を示し、静電的でエントロピー駆動の相互作用を担うことが示された。このことから OMD は線維形成過程においてコラーゲンに結合解離を繰り返すことで線維形成速度を低下させているといった考察は納得のいくものであった。また相互作用部位を同定するために OMD 変異体作製を行ったが、構造不安定化の問題から他の蛋白質との融合蛋白質を設計し、その融合蛋白質で相互作用部位のマッピングを行うといった視点は非常に独創的であると評価できる。さらに候補に上がったアミノ酸に関しては全長の OMD に変異をかけて活性を評価するなど、データの質として信頼性の高いものとなっているといえる。また、コラーゲン側の相互作用部位の同定に関しては計算化学を取り入れ、さらにその結果を確かなものとするために実験によって検証するといった新たなアプローチを成功させている。

第 5 章においては OMD のみならず他の SLRPs の Decorin, Fibromodulin, Asporin, PRELP がコラーゲン線維形態に与える影響を解析している。本論文から組み換え系として発現精製に難航しているものや OMD とは異なる相互作用を示すものの存在を明らかにした。また、OMD と相同性の高い Fibromodulin は OMD と同様のコラーゲン結合活性を有していたことから、SLRPs ファミリー内でも機能が似ているものとそうでないものが存在し、その違いが組織構築という複雑なプロセスを可能にしていることを示唆できる結果となっている。

第 6 章ではこれまでの結果のまとめとその考察を行っている。第 2 章から第 6 章までの結果より、OMD によるコラーゲン線維の均一な幅、形状、線維構造の安定化といった“質”の制御は、線維形成過程における OMD の結合解離の繰り返しによる線維形成速度の低下、つまり非特異的相互作用を防ぎつつ線維形成を進行させるといった精巧な相互作用システムから行われていることが考えられる。この新規の制御メカニズムの提案はこれまでの結果から非常に説得力のあるものだといえる。

本論文で明らかにした、コラーゲン線維形状の制御メカニズムは長年の課題の各組織におけるコラーゲン線維形態制御機構の解明に繋がると考えられる。また、その分子機構を足がかりとして、線維形状の自在なデザインが実現可能となることが期待される。例えば、線維症やがんにおいて、疾病の進行に寄与する線維制御不全を改善するための新たな疾患治療法の開発などが考えられ、本論文が今後の医工学分野において多大な貢献をすることが十分に期待できる結果となっている。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。