

論文審査の結果の要旨

氏名 松尾 萌

繊毛は、環状に並んだ9本の周辺微小管と中央に2本の中心対微小管が配置された軸糸構造をもつ細胞小器官である。波動運動する構造に特殊化した繊毛は、運動性繊毛とよばれており、脳室上皮、気管、副鼻腔、輸卵管などに一細胞あたり数百本存在する。運動性繊毛は、脳室内の髄液流の駆動や卵の輸送など哺乳類の体内において、一方向の流れの形成に関わっている。

繊毛が一方向の流れを作るためには、組織の発生過程で細胞からはえる複数の繊毛の運動方向を一方向に揃える必要がある。しかし、このような細胞内の繊毛配向を決定する要因については諸説あるのが現状で、種間および組織間で共通のメカニズムが存在するかどうかも分かっていなかった。なお、繊毛の喪失が細胞内の残存する繊毛基部の配向を乱すことから、繊毛の細胞内の配向に影響を与える要素の一つとして繊毛の重要性が示唆されていた。しかし、「繊毛の軸糸の喪失」と「繊毛の運動性の喪失」のどちらが実際に繊毛の配向に影響を与えているのかは検証されていない。本論文では、「繊毛の運動性」が繊毛の配向に与える影響を検証した。この目的のために本研究では、メダカ変異体から単離された **Kintoun (Ktu)** タンパク質に注目した。運動性繊毛に運動能力を付与するのは、繊毛を構成する微小管束の周囲に接着している軸糸ダイニンである。メダカなどを用いた解析から、**Ktu** は細胞質に局在するが、その機能が失われた場合には繊毛の軸糸ダイニン（主に外腕ダイニン）が大幅に減少することから、このタンパクは細胞質中で軸糸ダイニンの複合体形成に関わると考えられていた。本研究では、*Ktu* のノックアウトマウスの表現型を解析することによって、細胞内における繊毛の配向に繊毛の運動が果たす役割を明らかにした。

本論文は三章から構成されている。第一章では、マウス **Ktu** の発現様式が既に報告されているクラミドモナス **PF13** やヒト **KTU** の知見と一致するかどうか調べている。結果、**Ktu** は運動性繊毛あるいは鞭毛を持つ器官でのみ発現が確認され、運動性繊毛を持たないその他の器官では確認できなかった。また、気管支と脳室壁に対して組織免疫染色を行った結果、**Ktu** は運動性繊毛を持つ細胞の細胞質全体に分布することがわかった。いずれも他の生物種で示された **Ktu** の発現の特徴と良く一致しており、マウスにおいても **Ktu** が運動性繊毛を持つ細胞でのみ発現することが裏付けられた。

第二章においては、繊毛の運動性の喪失が個体・器官に与える影響を調べるために、国立遺伝学研究所・発生工学研究室（相賀裕美子教授）と共同研究で *Ktu* ノックアウトマウスを作成し、その表現型解析を行っている。先行研究から、*Ktu* のノックアウトマウスを作成した場合、複数の軸糸ダイニン種が欠損し、繊毛の運動性を完全に失った **PCD** の哺乳

類モデルが得られると予想された。表現型解析の結果、*Ktu*ノックアウトマウス (*Ktu*^{-/-}) は、PCD の代表的な症状である左右逆位と水頭症を示した。気管支上皮と脳室上皮を解析した結果、繊毛の形状や細胞内の密度などは野生型と *Ktu*^{-/-} で差がなかったが、*Ktu*^{-/-} の繊毛からは外腕ダイニンの構成要素が失われており、繊毛の運動性は完全に失われていた。以上より、*Ktu*^{-/-} は典型的で重篤な PCD を発症し、繊毛の運動性の役割を詳細に解析するモデル系として有用であることがわかった。

第三章においては、*Ktu*^{-/-} を用いて、繊毛の運動性が繊毛の配向決定をどのように支配しているかを検証した。繊毛運動の方向は、繊毛の基部に存在する basal foot の方向と対応することが知られている。*Ktu*^{-/-} の脳室壁と気管支上皮の繊毛を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察し、basal foot の方向を解析した。その結果、脳室上皮細胞においては一細胞内における basal foot の配向が乱れていることが判明した。この結果から、脳室では繊毛の配向の決定に「繊毛の運動性」が大きな役割を果たすことを裏付ける結果となった。同様に、気管支上皮の繊毛の basal foot の方向も観察した結果、細胞内の配向に大きな乱れはなく、basal foot の方向決定における繊毛の運動性に対する依存度が、気管支と脳室で大きく異なることが示された。

本研究は、「繊毛の運動性」が繊毛の配向の決定に関わることを直接的に証明した初めての報告とであり、運動性繊毛の配向の決定メカニズムにおける「繊毛の運動性」の役割の組織間の違いを明らかにした。また、気管支上皮細胞と脳室上皮細胞双方で繊毛の運動性が完全に失われるノックアウトマウスはこれまでに報告例がなく、今回報告した *Ktu*^{-/-} が今後 PCD のモデル動物として有用である事が期待される。

なお、本論文は島田敦子氏、相賀裕美子氏、越田澄人氏、武田洋幸氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験を計画し、遂行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。