

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	牧原 弘幸
論文審査 委員氏名	主査 栗田 賢一 副査 下郷 和雄 三谷 章雄			
論文題名	Cdk1 によるデスミンのリン酸化は細胞質分裂に必要であり、デスミン Ser 31 のリン酸化特異的抗体は筋組織や横紋筋肉腫の分裂期細胞を検出できる			

インターネットの利用による公表用

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	牧原 弘幸
論文審査 委員氏名	主査 栗田 賢一 副査 下郷 和雄 三谷 章雄			
論文題名	Cdk1 によるデスミンのリン酸化は細胞質分裂に必要であり、デスミン Ser 31 のリン酸化特異的抗体は筋組織や横紋筋肉腫の分裂期細胞を検出できる			

インターネットの利用による公表用

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	牧原 弘幸
論文審査 委員氏名	主査 栗田 賢一		印
	副査 下郷 和雄		印
	三谷 章雄		印
論文題名	<p>Cdk1 によるデスミンのリン酸化は細胞質分裂に必要であり、デスミン Ser 31 のリン酸化特異的抗体は筋組織や横紋筋肉腫の分裂期細胞を検出できる</p>		
<p>学位申請論文（全文）のインターネットの利用による公表（○をお願いします） 可 ・ <input checked="" type="radio"/> 不可 不可の理由（学位規則第9条第2項に規定する「やむを得ない事由」） 学位申請論文中の図1～17、表1が(Biochemical and Biophysical Research Communications. 478(3) : 1323 - 1329, 2016) に掲載され、著作権による制約を受けている為</p>			

歯学研究科委員会提出用

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	牧原 弘幸
論文審査 委員氏名	主査 栗田 賢一 副査 下郷 和雄 三谷 章雄		印 印 印
論文題名	Cdk1 によるデスミンのリン酸化は細胞質分裂に必要であり、デスミン Ser 31 のリン酸化特異的抗体は筋組織や横紋筋肉腫の分裂期細胞を検出できる		

大学院委員会提出用

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	牧原 弘幸
論文審査 委員氏名	主査	栗田 賢一	副査	下郷 和雄 三谷 章雄
論文題名	Cdk1 によるデスミンのリン酸化は細胞質分裂に必要であり、デスミン Ser 31 のリン酸化特異的抗体は筋組織や横紋筋肉腫の分裂期細胞を検出できる			

インターネットの利用による公表用

中間径フィラメントは微小管やアクチンフィラメントと共に全ての脊椎動物において細胞骨格を形成している。その中間径フィラメントを構成するタンパク質は6つのグループに分けられ、それぞれ細胞特異性がある。Ⅲ型中間径フィラメントであるビメンチンは全ての間葉系細胞で発現し、他のⅢ型中間径フィラメントであるGFAPは星状膠細胞、デスミンは筋細胞で発現する。

また、中間径フィラメントの構造は、ヘッド、ロッド、テイルの3つのドメインからなり、その脱重合は、ヘッドドメインのセリン (Ser: S)、スレオニン (Thr: T) 残基のリン酸化によって制御されると考えられている。また、リン酸化状態を認識する抗リン酸化抗体は細胞内の部位特異的な中間径フィラメントのリン酸化を証明する有用なツールである。

デスミンは Rho-k により Thr 16、Thr 75、Thr 76 が、Aurora B により Ser 11、Thr 16、Ser 59 がリン酸化される。Rho-k や Aurora B によるデスミンのリン酸化は分裂溝で特異的に検出され、細胞質分裂時のデスミンフィラメントの効率的な分離のために必要である。これまでに、試験管内で Cdk1 によってデスミンがリン酸化されることが報告されているが、個体内におけるリン酸化の生理的な意義は全く明らかになっていなかった。以上を背景として、本論文は Cdk1 によるデスミンのリン酸化が細胞分裂時にデスミンフィラメントの効率的な分離に寄与するか、および、このリン酸化は一般的に個体内における分裂期の筋細胞で検出できるかを調べた研究成

果をまとめたものである。

本研究のはじめに、マウス・デスミンの Cdk1 によるリン酸化部位として Ser 6、Ser 27、Ser 31 を配列情報から推定し、同定した。さらに、マウスの Ser 31 に対応したラットモノクローナル抗リン酸化抗体 TD31 を作製した。次に、TD31 を用いて抗体吸収試験を行い、TD31 の免疫反応は抗リン酸化ペプチドで前処理することで完全に消失することを示した。また、TD31 は Cdk1 で処理したデスミンには反応するが他のキナーゼ (Aurora B、Rho-k) で処理したデスミンには反応しないことを示した。Cdk1 によってリン酸化したデスミンへの TD31 の免疫反応は、Ser 31 の Ala への変異によって完全に消失した。しかしながら、Ser 6 または Ser 27 に変異を導入しても、TD31 の免疫反応には変化を認めなかった。以上より、本研究によって TD31 がデスミン Ser 31 のリン酸化に特異的であることを証明している。

また、Ⅲ型中間径フィラメントが欠損している T24 細胞において、外来性にⅢ型中間径フィラメントを発現させ、デスミンのリン酸化不全による細胞質分裂障害への影響を検討している。その結果、Aurora-B と Rho-k に比べて寄与は低い可能性があるが、Cdk1 によるデスミンのリン酸化も細胞質分裂の際のデスミンフィラメントの効率的な分離に寄与していることが本研究によって示されている。

さらに TD31 を用いてマウスの筋組織 (胎生 15.5 日、生後 0 日と 6 週) を染色することにより、筋組織の細胞分裂部位を同定することができた。

(論文審査の要旨)

No. 3

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

また臨床応用への可能性を示唆するために、デスミン陽性である筋組織由来の腫瘍における分裂期細胞の同定を試みている。この実験では2例の異なる原発部位の横紋筋肉腫患者由来の組織(14歳の上腕、4歳の下肢)が用いられており、TD31で染色した結果、ヒト横紋筋肉腫の分裂期細胞を同定することができた。以上の結果から培養細胞だけでなく、細胞分裂期の筋細胞を含む組織においても、デスミンはCdk1によって分裂期にリン酸化されることが本研究により示唆された。またTD31は、これまで有用な腫瘍マーカーが存在しなかった横紋筋肉腫の診断の新たなツールになり得ると考えられ、今後のさらなる研究が期待される。以上、本研究は口腔外科学をはじめとする関連諸学科に寄与するところが大きく、よって本論文は博士(歯学)の学位授与に値するものと判断した。