

## 論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

○氏名	吉田 沙織（よしだ さおり）
○学位の種類	博士（理学）
○授与番号	甲 第 1107 号
○授与年月日	2016 年 3 月 31 日
○学位授与の要件	本学学位規程第 18 条第 1 項 学位規則第 4 条第 1 項
○学位論文の題名	消化管における細胞骨格関連タンパク質エズリンの生理的な役割に関する研究
○審査委員	（主査） 浅野 真司（立命館大学薬学部教授） 早野 俊哉（立命館大学生命科学部教授） 藤田 典久（立命館大学薬学部教授）

### <論文の内容の要旨>

アクチン結合タンパク質であるエズリンは、主に消化管や腎尿細管の刷子縁膜（Brush border membrane: BBM）に集積し、細胞膜上のタンパク質とアクチン細胞骨格とを架橋する。このように、エズリンはアクチンフィラメントの再構成を伴う細胞の構造変化や、膜タンパク質の細胞膜上での発現や機能を制御することが報告されている。学位申請者は、遺伝子改変によってエズリンの発現をゼロレベル近くに低下させたノックダウンマウスを材料として、消化管の組織構造、タンパク質の発現について網羅的な解析を行い、エズリンの生理機能を検討した。本論文は二部構成からなり、第一部ではマウス胃粘膜構造におけるエズリンの働きを、第二部ではマウス回腸 BBM におけるタンパク質の発現に対するエズリンの働きが検討された。第一部においてはおもに免疫組織学的手法を用いて、(1) エズリンを欠損させると、胃壁細胞内において空胞化やミトコンドリアの形態異常など、微細構造に大きな変化が見られること、(2) 胃酸分泌阻害および血清中のガストリン値の上昇と、腺窩上皮の過形成による粘膜の肥厚が見られること、(3) 胃底腺の壁細胞や主細胞数の減少、副細胞数の増加と、胃底腺の拡張が見られることを明らかにした。また、第二部においては、BBM の質量分析や免疫学的な検出法を用いて、(1) マウス回腸 BBM に発現するタンパク質の網羅的な解析を行い、313 種類のタンパク質を同定した。エズリンの欠損によって、19 種類のタンパク質の発現に上昇または低下が見られること、(2) エズリンの欠損によって、回腸 BBM におけるいくつかの新規な膜輸送タンパク質（SMCT1, CLIC5 など）や、細胞骨格関連タンパク質（NHERF1 など）の発現低下が見られることを明らかに

した。

#### <論文審査の結果の要旨>

アクチン結合タンパク質であるエズリンは、生体内で多彩な機能を有し、生理学的に、また病態とのかかわりからも興味深いタンパク質である。

学位申請者は、エズリンを高発現する消化管での働きに焦点をあて、遺伝子改変マウスを用いて、第一部では胃の組織構築に対するエズリンの働きを、第二部では小腸の回腸部分における **BBM** でのタンパク質発現に対するエズリンの働きを検討した。そして、第一部においては、おもに免疫組織学的な手法を用いて、エズリンが胃壁細胞の微細構造の維持、胃粘膜細胞の分化や組織の構造維持に寄与することを発見した。また、第二部においては、単離した **BBM** の質量分析による網羅的な解析や、免疫学的な検出法を用いて、エズリンが回腸 **BBM** における一連のタンパク質の安定な発現に寄与することを発見した。

第一部について、エズリン欠損にともなって胃壁細胞にどのような障害が生じたのかという点に関して、電子顕微鏡写真から判断すると核の構造やクロマチンに対する影響も検討すると良いのではという指摘がなされた。また第二部について、エズリン欠損時に特定の膜輸送タンパク質の発現が低下するメカニズムに関して、小胞体機能の低下やタンパク質のミスフォールディングによるものではないかという指摘がなされた。これらの点については今後の発展的な研究の中で検討材料とする価値がある。

全体として、本論文は、組織学的、生化学的な手法とプロテオーム解析という異なる手法を駆使して、エズリンが胃粘膜の組織構築に大きく関わることや、小腸の **BBM** におけるタンパク質の発現に関わることを明らかにした点において新規性があり、大いに評価できる。以上により、公聴会での口頭試問結果を踏まえ、本論文は博士学位を授与するに相応しいものと判断した。

#### <試験または学力確認の結果の要旨>

本論文の主査は、学位申請者と本学大学院理工学研究科総合理工学専攻博士課程後期課程在学期間中に、研究指導を通じ、日常的に研究討論を行ってきた。また、本論文提出後、主査および副査はそれぞれの立場から論文の内容について評価を行った。

本論文の審査に関して、2016年5月19日(木)18時30分~19時45分サイエンスコア5階会議室において公聴会を開催し、学位申請者による論文要旨の説明の後、審査委員は学位申請者吉田沙織に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、第一部に関してマウス胃壁細胞におけるアポトーシスの可能性、核膜の形態異常やクロマチンの変化の可能性について、第二部に関してマウスの回腸部分で発現比較を行った意義、エズリン欠損時に特定の膜輸送タンパク質の発現が低下するメカニズムについて質問がなされた。また、全体を通じてノックダウンマウスでエズリンの発現量が低下するメカニズム、エズリンの活性化に関わるリン酸化部位などについて質問がなされた。いずれの質問

に対しても学位申請者の回答は適切なものであった。学位申請者は、本学学位規程第 18 条第 1 項該当者であり、論文内容および公聴会での質疑応答を通して、学位申請者が十分な学識を有し、博士学位に相応しい学力を有していると確認した。以上の諸点を総合し、学位申請者に対し、本学学位規程第 18 条第 1 項に基づいて、「博士（理学 立命館大学）」の学位を授与することが適当であると判断する。