

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	ナマコのキャッチ結合組織を軟化させるタンパク質の研究
Title(English)	
著者(和文)	竹花康弘
Author(English)	Yasuhiro Takehana
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9403号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:本川 達雄,濱口 幸久,本郷 裕一,田中 幹子,鈴木 崇之
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9403号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	竹花康弘	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	本川達雄	教授	鈴木崇之	准教授
	審査員	濱口幸久	教授		
		本郷裕一	准教授		
田中幹子		准教授			

## 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「ナマコのキャッチ結合組織を軟化させるタンパク質の探究」と題し、以下の5章からなる。

第1章「序論」では、棘皮動物特有のキャッチ結合組織（硬さの変わる結合組織）の概説に続き、この組織の研究は主にナマコ真皮において行われてきたこと、真皮の硬さには、軟化状態、標準状態、硬化状態の3状態があること、神経の興奮により、真皮内の分泌細胞から何らかの物質が放出され、これが真皮の細胞外成分（主にコラーゲン繊維）の硬さを変えると考えられてきたことが述べられている。硬さを変化させる物質が探求されてきたが、その中では、神経細胞から放出される物質についての研究が進んでおり、他方の、細胞外成分に直接効くことによって硬さを変える物質の研究は遅れていて、細胞外成分に効くことが確実に証明されている物質は、皆無だと述べられている。しかし硬さ変化の分子機構を知るには、そのような因子の単離同定とその作用機序の解明が必須であり、単離するためには、その因子が細胞外成分に直接働いていることが明白にわかるアッセイ系を用いることが必要で、この研究は、そのようなアッセイ系を開発し、それを用いて軟化因子をナマコから単離同定し、キャッチ結合組織の分子機構に迫るのが目的であると述べている。

第2章「材料と方法」では、軟化因子の抽出法、アッセイ系として用いた2種類の界面活性剤処理真皮（トリトンモデルと、それをさらに凍結融解処理したTFTモデル）の作成法、硬さの測定に用いた動的力学試験法、硬化タンパク質であるテンシリンや単離コラーゲンの抽出法につき述べている。

第3章が「結果」の章である。動的力学試験により測定された硬さ、および動的試験により歪を繰り返し加えた際の真皮の力学的性質につき、生きた真皮と2つの界面活性剤処理モデルを比較した結果が示されている。トリトンモデルを軟化させるタンパク質を、シカクナマコから、3段階のクロマトグラフィーにより単離し、SDS-PAGEによって約20kDaの単一バンドであること、染色によりこのタンパク質には糖鎖があることを確かめ、また、N末のアミノ酸部分配列を決めたこと、配列から見て、これは新奇のタンパク質である可能性が高いため、ソフニンと名付けたことが述べられている。ソフニンの効果には可逆性があり、ソフニンで軟化させた後にソフニンを除去すると硬さが数分である程度回復すること、ソフニンは別種のナマコの真皮モデルをも軟化させ、また生きた真

皮も軟化させたという結果が示されている。

硬化タンパク質であるテンシリンとの相互作用についての結果も報告されている。テンシリンはトリトンモデルには効果がないが、TFTモデルを硬くすること、一方、ソフニンはトリトンモデルを軟化させるが、TFTモデルには効果がないことが示された後、テンシリンで硬化させたTFTモデルにソフニンを与えると、テンシリン投与以前の硬さにまで軟化することが示されている。ナマコ真皮から単離されたコラーゲン繊維の懸濁液は、テンシリン投与で凝集するが、それにソフニンを与えると凝集が解除されること、テンシリンによる凝集は、凍結融解処理でも解除されることが述べられている。

第4章「議論」では、トリトンモデルがナマコ真皮の標準状態に、TFTモデルが軟化状態に対応することが、硬さ、歪依存性、テンシリンへの反応性にもとづいて論じられている。ソフニンは別種のナマコをも軟化させ、また生の真皮も軟化させるため、ナマコ真皮の軟化に普遍的に働いている物質だと推測している。ソフニンの効果が可逆的であることから、これが単なる分解酵素として機能しているのではないと論じている。また、テンシリンが細胞を破壊した真皮にも効果をもつことを示すことにより、テンシリンが細胞外成分に直接効くことを初めて証明したと述べている。生きた真皮と、細胞破壊モデルと、コラーゲン懸濁液との3者で、テンシリンとソフニンとが同様に働くことから、この二つのタンパク質はナマコの硬さ変化機構に生体内で関わっているものであり、テンシリンはコラーゲン繊維間を架橋することにより、軟化状態を標準状態に硬化させ、ソフニンはテンシリンに拮抗することで軟化させると結論し、キャッチ結合組織の硬さ変化機構の模式図を提案している。

第5章「結論と今後の展望」において、今後の研究の方向性が述べられている。

以上を要約するに、本論文は、新奇軟化因子ソフニンの同定と、2種類の細胞破壊モデルの開発を通して、真皮キャッチ結合組織の軟化状態と標準状態との間の硬さ変化が、テンシリンとソフニンの拮抗作用によるコラーゲン繊維間の架橋の形成と解除によって起こることをはっきりと示し、硬さ変化の分子機構の解明に顕著に寄与しており、その成果は理學上貢献するところがきわめて大きい。よって、本論文は博士（理學）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。