



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on Roles of Nonmuscle Myosin II Isoforms in Stress Fiber Organization and Directionally Persistent Migration of Fibroblasts [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	倉賀野, 正弘
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	乙第7063号
Issue Date	2018-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71857
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Masahiro_KURAGANO_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 倉賀野 正弘

審査担当者	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	高木 睦
	副査	教授	藤田 恭之
	副査	教授	村上 洋太
	副査	准教授	高橋 正行

学 位 論 文 題 名

Studies on Roles of Nonmuscle Myosin II Isoforms in Stress Fiber Organization and Directionally Persistent Migration of Fibroblasts
(線維芽細胞のストレスファイバー形成と方向持続的遊走における非筋細胞ミオシン II アイソフォームの役割に関する研究)

非筋細胞ミオシン II（以下 NMII）は、ATP を加水分解して得たエネルギーを利用してアクチンフィラメント（以下 F-actin）を動かすモータータンパク質であり、様々な細胞運動において重要な役割を果たす。哺乳類には 3 種類のアイソフォーム（NMIIA、NMIIB、NMIIC）が存在する。線維芽細胞において主要なアイソフォームである NMIIA と NMIIB は、in vitro の研究から、異なる分子特性をもつことが示されている。NMIIA は、NMIIB よりも高い ATPase 活性とモーター活性を持ち、F-actin を活発に動かす。一方、NMIIB は NMIIA より高い Duty Ratio（ATPase cycle において、F-actin に対して強い結合状態にいる時間の割合）を示す。そのため、NMIIB は F-actin を架橋・保持する能力に優れている。しかしながら、細胞レベルでの NMII アイソフォームの機能の差異に関しては、不明な点が多く残されている。本研究は、NMII と F-actin が主要な構成因子である収縮装置のストレスファイバー（以下 SF）の形成と機能、およびそれらが時空間的に制御されることによって可能となる細胞遊走における NMIIA と NMIIB の機能を解明することを目的とした。

本学位論文は前 5 章で構成されている。

序章では本研究に関する研究背景と目的を記述している

Chapter 1 では今まで観察が困難であった張力がかかった細胞骨格を直接観察するために、NMII 頭部ドメイン S1 の変異体が張力がかかった F-actin に優先的に結合するという報告をもとに、S1 を利用した張力プローブの開発を試みた。種々の変異体と EGFP の融合タンパク質を用いて、NMIIIB-S1-R709C が張力負荷領域プローブ (S1 プローブ) として機能し得ることを示した。

Chapter 2 では、transverse arc (TA)、ventral SF (vSF)、dorsal SF (dSF) の 3 種の subtype に分類される SF の形成と機能発現における NMIIA と NMIIB の役割を解明することを目的としてヒト不死化線維芽細胞 MRC-5 SV1 TG1 細胞を用いて解析をおこなった。NMIIA、IIB それぞれの knock down の細胞形態、細胞骨格に及ぼす効果を詳細に解析した結果、NMIIA と NMIIB の両方が TA の正常な機能に必要であること、また、vSF の形成は NMIIB に特異的な役割であることが明らかになった。さらに、S1 プローブが直線状の vSF に選択的に局在することを見出した。この結果は、SF subtype 間で F-actin の構造に違いがある可能性を示している。

Chapter 3 ではヒト正常線維芽細胞 TIG-1 の方向持続的な遊走における NMII アイソフォームの機能解明を目的として、NMIIA、IIB それぞれの knock down に細胞運動の変化を照射に解析した。さらに S1 プローブを用いて細胞骨格にかかる張力の変化の解析もおこなった。その結果、NMIIA は前方領域で安定な細胞膜の突出を維持することで、遊走方向の舵取りとして機能し、一方で、NMIIB は後方領域の SF で張力を発生させて不要な細胞膜の突出を抑制することで、前方-後方の極性を維持している可能性を示した。

最終章では本論文の結果と今後の展開を議論している。

本研究では、(1) 細胞骨格制御過程である SF の形成・機能発現と、(2) 正常な細胞骨格制御による方向持続的な遊走、に焦点をあて、NMIIA と NMIIB の特異的機能を総括的に研究した。その結果、

NMII 頭部領域の ATPase 活性・モーター活性や尾部領域のフィラメント形成能の違いという分子レベルの特性の違いが、SF の集合・脱集合の過程と細胞の極性形成や遊走様式の制御機構に大きく影響することを明らかにした。これにより未解明で他 NMII サブタイプの生理機能の違いを細胞形態・運動の両面から明らかにし、今後、細胞運動およびメカノバイオロジー分野の研究に大きく貢献すると思われる。

よって、著者は北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格があるものと認める。