

Title	Elongation of primary cilia by expression of serotonin receptor type 6 is mediated by cyclin-dependent kinase 5
Author(s)	鹿田, 星
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89509
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 (鹿 田 星)

論文題名

Elongation of primary cilia by expression of serotonin receptor type 6 is mediated by cyclin-dependent kinase 5
 (セロトニン受容体6の発現による一次繊毛の伸長はサイクリン依存性タンパク質キナーゼ5により仲介される)

論文内容の要旨

脊椎動物の細胞が有する細胞小器官である一次繊毛の機能不全では繊毛病と呼ばれる神経発達障害を引き起こす。一次繊毛に局在するタンパク質として、セロトニン受容体6 (Htr6)、ソマトスタチン受容体3 (Sstr3)、メラニン凝集ホルモン受容体1 (Mchr1)などが知られているが、このうちHtr6の発現によって、一次繊毛の伸長が見られるという報告がされている。しかし、その分子メカニズムについてはまだ明らかにされていない。そこで本研究では、Htr6と相互作用する因子のサイクリン依存性タンパク質キナーゼ5 (CDK5)に着目し、Htr6発現による一次繊毛の伸長に対するCDK5の影響を検討した。まず、Htr6を外因性発現した培養細胞では一次繊毛の伸長が見られたが、Sstr3とMchr1の発現では伸長が見られず、正常な長さを示した。一方で、CDK5ノックアウト細胞では、Htr6発現によって誘発された一次繊毛の伸長は著しく減衰した。また、Htr6発現による一次繊毛の伸長は、CDK5阻害剤のロスコビチンにより抑制された。さらに、CDK5ノックアウト細胞におけるCDK5の外因性発現は、Htr6による一次繊毛の伸長作用を部分的に回復させた。以上の結果より、Htr6の発現による一次繊毛の伸長では、CDK5を介すことが示された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (鹿 田 星)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教 授 松 崎 秀 夫
	副 査 教 授 横 山 茂
	副 査 教 授 清 水 栄 司

論文審査の結果の要旨

本論文は、脊椎動物の細胞小器官である一次繊毛を対象とした細胞生物学的な研究である。一次繊毛はほとんどすべての脊椎動物細胞の表面において突起状の構造体として存在している。一次繊毛は細胞外の近傍環境内の化学的あるいは物理的な刺激を感知し、細胞内へシグナルを伝達する「細胞のアンテナ」としての役割を担っている。一次繊毛はバルデー - ビードル症候群やジュベール症候群などの繊毛病と総称される疾患群に関与する。神経発達障害を含む多器官の異常を伴う繊毛病においては、一次繊毛を介したシグナル伝達の異常や一次繊毛の異常な伸長などを認める。一次繊毛の異常な伸長は、神経細胞の一次繊毛に局在するGタンパク質共役型受容体 (GPCR) の一つであるセロトニン受容体6 (Htr6) の発現によっても誘発されることが報告されている。Htr6は中枢神経系に特異的に発現する受容体で、神経発達および社会性認知機能を制御することが知られている。Htr6の発現による繊毛伸長作用は神経細胞の機能に影響すると考えられるが、その分子メカニズムの詳細は未だ不明な点が多い。本論文ではHtr6の発現が一次繊毛の伸長を誘発する分子メカニズムにサイクリン依存性タンパク質キナーゼ5 (CDK5) が関与しているか否かを検討した。CDK5は神経機能に広く関与するタンパク質リン酸化酵素であり、CDK5がHtr6と相互作用すること、およびCDK5の活性により一次繊毛の長さが制御されることが報告されていたが、Htr6の発現による繊毛伸長へのCDK5の関与については未解明であった。本論文ではまず、ゲノム編集技術CRISPR/Cas9を用いてCDK5ノックアウトhTERT-RPE1 (RPE1) 細胞を作製した。続いて、CDK5ノックアウト細胞では、Htr6の発現により誘発される一次繊毛の伸長が、コントロールRPE1細胞と比較して減衰すること、またこの減衰は外因性のCDK5の発現により部分的に回復することを、免疫蛍光染色法を用いた解析により明らかにした。ここでは、Htr6が発現しない条件下では、CDK5のノックアウト自体は繊毛の長さに影響を及ぼさないことを確認した。回復実験の結果から、Htr6の発現が誘発する繊毛伸長効果のCDK5ノックアウトによる減衰は、CRISPR/Cas9の過程で生じ得るオフターゲット効果によるものではなく、CDK5の機能欠損に特異的な現象であることが示された。一方で、同じく神経細胞の一次繊毛に局在するGPCRであるソマトスタチン受容体3型やメラニン凝集ホルモン受容体1型のRPE1細胞での発現では、一次繊毛の伸長は見られなかった。このことから、他のGPCRとは異なるHtr6に特異的な分子メカニズムが繊毛伸長に関与していることが示唆された。更に、RPE1細胞においてHtr6の発現により誘発される一次繊毛の伸長は、CDK5阻害剤のロスコピチンの添加によっても減衰することを示した。以上の知見によりHtr6の発現が誘発する一次繊毛の伸長はCDK5により仲介されることを初めて明らかにし、Htr6とCDK5がニューロンの一次繊毛の適切な進展により、中枢神経系の正常な発達や認知機能に寄与している可能性を示したことは学位に値する。