

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中平 嶺

ジャンガリアンハムスターの胸腹部の皮膚には神経節細胞様 (ganglion cell-like:GL) 細胞と命名された特異な細胞が存在する。それらは1ないし2個の類円形の核と、好塩基性、泡沫状の細胞質を有し、神経節細胞に類似する。GL細胞は特に雄で多く確認され、性成熟に伴い増殖し、その分布域を拡大する。免疫組織化学的にはGL細胞の核はandrogen receptor (AR) に、細胞質はvimentinに陽性を示し、間質の線維はcollagen type 1およびtype 3に陽性を示す。GL細胞は雄に多く認められARを発現すること、増殖巣に種々の程度に膠原線維を伴うことなどから、アンドロゲン依存性の性質を有し、膠原線維の産生能をもつと考えられている。しかしながら、GL細胞の詳細な性質や機能は未だ不明のままである。

本研究ではGL細胞がARに陽性を示すことに注目し、この細胞のアンドロゲンに対する反応性の検索を行った。また、レクチンを用いた新規のマーカー検索とその認識糖鎖による被修飾タンパク質の解析を試みた。

1. 性腺切除によるジャンガリアンハムスター (*Phodopus sungorus*) の皮膚 GL細胞のアンドロゲン依存性生物学的挙動 (第2章)

GL細胞がアンドロゲン依存性の生物学的挙動を示すかどうかを検索するため、無処置動物と性腺摘出動物のGL細胞の変化を組織学的に比較検討した。雌雄の動物を4週齢時に性腺を摘出、18週時に胸腹部の皮膚を採材し、GL細胞

の出現グレードとその分布、増殖活性を組織学的に検索した。去勢雄は無処置雄に比較して、グレードや増殖活性は低く、分布域も狭かった。これらの3つのパラメータに関しては卵巣摘出雌と無処置雌間および無処置雌と無処置雄間においても同様の傾向が認められた。

これらの結果はジャンガリアンハムスターの GL 細胞の分布や増殖活性において性差があることを示しており、その発達にはアンドロジェンが深く関与していることが示唆される。

2. 性腺切除したジャンガリアンハムスターの皮膚 GL 細胞のテストステロン長期刺激による形態学的変化 (第3章)

アンドロジェンの GL 細胞に及ぼす影響を形態学的に検索するため、前章と同様に性腺摘出した雌雄ジャンガリアンハムスターに短期 (12 週) 間あるいは長期 (24 週) 間にわたり低用量 (5mg/kg) および高用量 (20mg/kg) のプロピオン酸テストステロン (TP) を毎週 1 回皮下投与した。短期および長期投与の雌雄いずれにおいても、TP 投与群では用量依存性に GL 細胞の出現率や増殖率の増加がみられた。また、投与期間の比較では、低用量群は長期投与の方が短期投与よりも高い増殖傾向が認められた。一方高用量群では投与期間で顕著な差は認められなかった。

前章と同様に性腺摘出により皮膚 GL 細胞の発達抑制がみられたが、テストステロン投与により用量依存性に増殖がみられた。これは GL 細胞がテストステロンのようなアンドロジェンに対し高い感受性を有し、これらのホルモンが GL 細胞の増殖に大きな影響を及ぼしていることが示された。

3. ジャンガリアンハムスターの皮膚 GL 細胞におけるレクチン結合性 (第4章)

ジャンガリアンハムスターの GL 細胞において、AR および vimentin 以外の新規のマーカーを見出すためにジャンガリアンハムスターの皮膚においてレクチン組織化学的検索を行った。用いた 8 つのレクチン、ConA、DBA、PNA、RCA₁₂₀、SBA、UEA-1、WGA およびサクシニル WGA (sWGA) のうち、WGA および sWGA が GL 細胞に特異的に反応した。

このことから、GL 細胞内のある種のタンパク質において *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) あるいはシアル酸による糖鎖修飾が行われていることが示された。また、両レクチンは GL 細胞のマーカーとなり得ると考えられる。

4. ジャンガリアンハムスターの皮膚 GL 細胞における WGA レクチン結合タンパク質の同定 (第 5 章)

前章においてジャンガリアンハムスターの皮膚組織において、GL 細胞の細胞質に WGA レクチンが特異的に反応したことから、WGA レクチン認識糖鎖で修飾されるタンパク質が GL 細胞の機能に関連するものと考えた。そこで腹部皮膚組織から WGA レクチンのアフィニティカラムを用いてタンパク質の精製を行い、糖鎖被修飾タンパク質の解析を試みた。泳動で得られた複数のバンドに対し、MALDI-TOF MS 解析およびウェスタンブロットティング法を行ったところ、 β -actin と糖鎖の転移酵素である MGAT2 の存在が示唆された。

近年 β -actin については細胞骨格として形状の維持に関わる機能以外にも転写調節に関連するシグナル伝達分子のような機能が示されている。GL 細胞における β -actin の糖鎖修飾の意義は現時点で不明確であるが、この特異な糖鎖修飾が GL 細胞の機能に関わっている可能性が考えられる。

以上より、ジャンガリアンハムスターの GL 細胞はアンドロジェン依存性に発

達することが明らかとなった。さらに GL 細胞の細胞質においては MGAT2 による GlcNAc の糖鎖修飾あるいはシアル酸の糖鎖修飾が行われており、その被修飾タンパク質には β -actin が含まれていることが示された。WGA レクチンとの特異的反応性は、今後、GL 細胞の新しいマーカーとして利用でき、この細胞の機能解明の手がかりとなるかもしれない。GL 細胞がフェロモン様物質を産生している可能性も考えられたが、解明には至らなかった。

このように、本論文はジャンガリアンハムスターの皮膚に出現する GL 細胞のアンドロジェン依存性生物学的挙動を初めて明らかにしたもので、今後内分泌攪乱物質のバイオアッセイにも応用できる可能性を示唆するものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。