

## 学位論文抄録

腎臓発生に必須であるキネシン *Kif26b* の分子機構の解析  
(Molecular mechanisms of *Kif26b* that is essential for kidney development)

阪口 雅 司

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻代謝内科学

指導教員

荒木 栄一 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻代謝内科学

西中村 隆一 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻腎臓発生学

## 学位論文抄録

【背景】 哺乳類の腎臓は、後腎間葉と尿管芽との相互作用によって形成される。腎臓形成に不可欠な Zn フィンガータンパク *Sall1* は後腎間葉に特異的に発現する。*Sall1*-GFP ノックインマウスの後腎間葉を用いたマイクロアレイによる解析から、キネシンファミリーに属する *Kif26b* (Kinesin family member 26B) 遺伝子が *Sall1* の直接の下流因子として見いだされた。*Kif26b* は後腎間葉に発現し、その欠失マウスでは、*Sall1* 欠失マウスと同様尿管芽の間葉へのひきよせが傷害されていた。これは、間葉の尿管芽を引き寄せる液性因子である *Gdnf* (Glial cell line-derived neurotrophic factor) の発現が維持されないためであると考えられる。しかし、この現象を説明する *Kif26b* の分子機構は未解明である。

【目的】 *Kif26b* による後腎間葉細胞の機能制御とその分子機構の解明を目的とした。

【方法】 *Kif26b* の細胞における機能を Tet-on 誘導システムを用いて解析した。KIF26B の会合分子を脳細胞及び腎臓由来細胞の可溶化物を免疫沈降法、pull down 法で抽出しプロテオミックス解析した。下流の分子として N-カドヘリンの機能を in vitro 細胞系及び *Kif26b* 遺伝子欠損マウスにおいて検証した。

【結果】 *Kif26b* の細胞内での機能を明らかにする為に、まずテトラサイクリン依存性に KIF26B を発現誘導する HEK293 細胞を樹立した。KIF26B の発現によって 24 時間以内に顕著な細胞形態の変化が認められ、N-カドヘリン依存的な細胞間接着亢進が促される事を見出した。逆に *Kif26b* 欠失マウスでは、尿管芽に接する間葉細胞の凝集が低下し、細胞間の N-カドヘリンの分布が障害されていた。C 端領域を除いた変異型 KIF26B $\Delta$ C をテトラサイクリン依存的に発現する HEK293 細胞では細胞接着の亢進が見られない事から、KIF26B の C 端側領域に細胞接着の亢進に関与する結合蛋白の存在が示唆された。この C 端領域に結合する分子を免疫沈降法及び GST-pull down 法にて探索を行い、NMHC II B を同定した。実際に NMHC II B は KIF26B の C 端領域に特異的に結合する分子である事が確認された。更に NMHC II 特異的阻害剤から、*Kif26b* によって誘導される細胞の接着が KIF26B と NMHC II B との結合に依存したものであることが明らかになった。*Kif26b* 欠失マウスの間葉細胞基底側では、*Gdnf* の維持に必要なインテグリン  $\alpha 8$  の低下が見られたが、KIF26B 過剰発現 HEK293 細胞では基質への接着はむしろ低下した。

これらの培養細胞を用いた機能獲得 (gain-of-function) 及びノックアウトマウスを用いた機能欠失 (loss-of-function) 実験から、*Kif26b* は NMHC II を介して N-カドヘリンによる後腎間葉細胞の接着を制御し、二次的にインテグリン  $\alpha 8$  及び *Gdnf* の発現を維持していることが示唆される。

【考察】 今後 *Kif26b* の後腎間葉での機能を更に解明する上で、間葉中での *Kif26b* と NMHC II 分布の相関を解析すると共に、両者の遺伝学的関連についても検証する必要があると思われる。その為には、NMHC II の時期、空間特異的遺伝子欠失マウスの作成を行う事が有用と考えられる。

【結論】 KIF26B 発現培養細胞及び *Kif26b* 遺伝子欠損マウスの解析をする事で、KIF26B は NMHC II を介し間葉の細胞間接着分子 N-カドヘリン制御を担っている事が分かった。