

The Cellular Distribution of *Src*-suppressed C Kinase  
Substrate (S<sub>Se</sub>CKS) in the Mouse :  
*In Situ* Hybridization and Immunohistochemical Study

(マウスにおける *src* 抑制 C キナーゼ基質 S<sub>Se</sub>CKS の細胞発現  
- *in situ* ハイブリダイゼーションと免疫組織化学的研究)

学位論文内容の要旨

*src*-suppressed C kinase substrate (S<sub>Se</sub>CKS、エセックス)は細胞骨格の再構築を介して、細胞の形、動き、分化を調節する重要な蛋白質キナーゼCの基質である。本研究科の北村らは、大腸菌リポポリサッカライド(LPS)投与によりマウスの脳において発現量が著しく増加する遺伝子を探索し、そのうちの一つを同定したところ、S<sub>Se</sub>CKSであった。S<sub>Se</sub>CKSは、脳を含むいくつかの臓器の血管内皮とリンパ性組織の細網細胞に選択的に発現していた。S<sub>Se</sub>CKSはLPSに反応して早期に特定の細胞に発現することから、炎症状態における働きをはじめその機能解析が待たれる。本研究の目的は、機能と関連づけてS<sub>Se</sub>CKSの細胞および細胞内発現を明らかにすることである。検索の主な手法は、S<sub>Se</sub>CKSに対する特異抗体による免疫組織化学的染色とS<sub>Se</sub>CKS mRNAに特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチドをアイソトープ標識したものをプローブに用いた *in situ* ハイブリダイゼーションである。

第1章では、肝臓とリンパ節における詳細な局在と異物取り込み能との関係を扱った。正常マウスの肝臓とリンパ節でのS<sub>Se</sub>CKSの発現は免疫組織化学では検出できなかった。LPS刺激により、S<sub>Se</sub>CKSの強い免疫活性が肝類洞の内皮細胞とリンパ節髄質の細網細胞に認められた。電顕下では、S<sub>Se</sub>CKSの免疫活性は両細胞において細胞膜に沿って局在した。これらS<sub>Se</sub>CKS発現細胞は正常では炭素粒子と20 nmラテックスビーズを少量取り込んだだけであるが、LPS刺激により取り込み能が著しく上昇した。このときの内皮細胞では、S<sub>Se</sub>CKSは飲み込み小胞や空胞と密接な位置関係にあったことから、S<sub>Se</sub>CKSが外来粒子の取り込みに関係があることが示唆された。S<sub>Se</sub>CKS含有細胞は細網内皮系 (RES) の重要なメンバーであり、LPSによる炎症状態において異物を盛んに取り込む。現在、

RES の概念は否定された感があるが、SSeCKS は RES に共通の機能分子として位置づけることができるであろう。RES における SSeCKS の存在はこの異物処理システムとしての再評価が必要であることを意味している。

第2章では、SSeCKS の神経系における細胞同定が混乱をきたしていることから、末梢神経系と感覚器における SSeCKS の発現を免疫組織化学と *in situ* ハイブリダイゼーション法によって調べた。末梢神経系では、SSeCKS の免疫活性と mRNA 発現は知覚神経節と自律神経節に認められたが、発現細胞は神経節および神経細胞のタイプによってやや異なっていた。知覚神経節（背根神経節と三叉神経節）では小型および中型の神経節細胞が SSeCKS を発現し、大型の神経節細胞は陰性であった。また、神経節内のシュワン細胞と一部の衛星細胞（外套細胞）も SSeCKS を含有していた。一方、自律神経節（腹腔神経節、骨盤神経節、腸の筋層間神経叢）では、衛星細胞とシュワン細胞のみが陽性で、神経節細胞は陰性であった。SSeCKS の発現は多くの感覚器、すなわち網膜、コルチ器、味蕾、嗅粘膜では認められなかった。唯一 SSeCKS の強い発現が観察されたのは鋤鼻器であり、すでに新生子においても鋤鼻器が SSeCKS を発現していた。そこでは、感覚上皮内の支持細胞が選択的に染め出された。鋤鼻器での SSeCKS の発現は、そこから出る鋤鼻神経のシュワン細胞に連続的に受け継がれ、さらに副嗅球まで追うことができた。

以上のように、SSeCKS の発現には2通りの発現様式がある。すなわち、炎症などによって誘導される発現と限られた細胞における恒常的な発現である。前者の場合、SSeCKS は血中およびリンパ中の外来粒子や老廃物の除去に関係していることが示された。後者の持続的に発現する細胞として、これまで報告されている星状膠細胞と知覚神経節細胞のほかに、神経節衛星細胞、シュワン細胞、および鋤鼻器のグリア要素（支持細胞）が加わった。星状膠細胞に発現する SSeCKS は血液脳関門の成熟を誘導することが知られている。今回の観察から、SSeCKS が末梢神経系と鋤鼻器における機能調節や組織の恒常性維持に関わっていることが示唆された。生体における SSeCKS の発現様式についてのデータはまだ断片的であるが、タンパク質キナーゼCの基質である SSeCKS および関連蛋白質の今後の研究展開により、細胞の機能解析や病態解明につながることを期待される。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 昆 泰 寛  
副 査 教 授 斉 藤 昌 之  
副 査 助 教 授 橋 本 善 春  
副 査 教 授 岩 永 敏 彦 (医学研究科)

## 学位論文題名

### The Cellular Distribution of *Src*-suppressed C Kinase Substrate (S<sub>Se</sub>CKS) in the Mouse : *In Situ* Hybridization and Immunohistochemical Study

(マウスにおける *src* 抑制 C キナーゼ基質 S<sub>Se</sub>CKS の細胞発現  
- *in situ* ハイブリダイゼーションと免疫組織化学的研究)

*src*-suppressed C kinase substrate (S<sub>Se</sub>CKS)は 細胞骨格の再構築を介して、形態維持、運動、分化、増殖などを調節する重要な蛋白質キナーゼCの基質である。S<sub>Se</sub>CKS はリポポリサッカライド (LPS) に反応して早期に特定の細胞に発現することから、炎症状態における働きを含めその機能解析が待たれる。本研究の目的は、機能と関連づけて S<sub>Se</sub>CKS の細胞および細胞内発現を明らかにすることである。

まず、肝臓とリンパ節における詳細な局在と異物取り込み能との関係を扱った。LPS 刺激により、S<sub>Se</sub>CKS の強い免疫活性が肝類洞の内皮細胞とリンパ節髄質の細網細胞に認められた。電顕下では、S<sub>Se</sub>CKS の免疫活性は両細胞において細胞膜に沿って存在した。これら S<sub>Se</sub>CKS 発現細胞は 正常では炭素粒子とラテックスビーズを少量取り込んだだけであるが、LPS 刺激により取り込み能が著しく上昇した。つぎに、S<sub>Se</sub>CKS を恒常的に発現する細胞系を探るため、末梢神経系と感覚器における S<sub>Se</sub>CKS の発現を調べた。知覚神経節では、小型および中型の神経節細胞と一部の衛星細胞が S<sub>Se</sub>CKS を発現していた。一方、自律神経節では、衛星細胞とシュワン細胞のみが陽性で、神経節細胞は陰性であった。感覚器では、鋤鼻器においてのみ S<sub>Se</sub>CKS の強い発現が観察され、陽性反応は感覚上皮 (支持細胞) と、そこから出る鋤鼻神経のシュワン細胞に連続的に受け継がれ、さらに副嗅球まで追うことができた。

以上のように、S<sub>Se</sub>CKS は2通りの発現様式、すなわち、炎症などによって誘導される発現と限られた細胞における恒常的な発現を示した。前者の場合、S<sub>Se</sub>CKS は血中およびリンパ中の外来粒子や老廃物の除去に関係していることが示された。後者の持続的に発現する細胞として、これまで報告されている星状膠細胞と知覚神経節細胞に、神経節衛星細胞、シュワン細胞および鋤鼻器のグリア要素 (支持細胞) が加わった。星状膠細胞に発現する S<sub>Se</sub>CKS は血液脳関門の構築を誘導することが知られている。今回の観察から、S<sub>Se</sub>CKS が末梢神経系と鋤鼻器における機能調節や組織の恒常性維持に関わっていることが示唆された。生体における S<sub>Se</sub>CKS の発現様式に

ついでにデータはまだ断片的であるが、タンパク質キナーゼCの基質である SSeCKS および関連蛋白質の今後の研究展開により、細胞の機能解析や病態解明につながることを期待される。

よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者 Tilladit Rung-ruangkijkrai 氏の博士論文が、北海道大学大学院 獣医学研究科規程第6条の規定による 本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。