



Title	CD44 Binds a Chondroitin Sulfate Proteoglycan Aggrecan
Author(s)	藤本, 敬
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42574
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	藤 本 敬
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 6 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	CD44 Binds a Chondroitin Sulfate Proteoglycan Aggrecan (CD44はコンドロイチン硫酸プロテオグリカン・アグリカンと結合する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 宮坂 昌之 教 授 濱岡 利之

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

CD44は白血球、造血系細胞、繊維芽細胞、上皮細胞、癌細胞などに広範囲に発現している I 型膜貫通糖タンパクで、癌転移やリンパ球ホーミングなどに関与することが知られている。またリガンドであるヒアルロン酸 (HA) との結合によって細胞内にシグナルを伝達し細胞増殖促進、接着分子の発現、サイトカインやケモカインの分泌などに関与することも報告されている。我々はこれまでに、CD44がマウス T 細胞株由来のコンドロイチン硫酸 (CS) プロテオグリカンであるセルグリシンと CS 側鎖依存性に結合し、細胞傷害性 T 細胞からのグランザイム A 分泌を促進することを報告している。本研究では CD44 と軟骨由来の CS プロテオグリカンであるアグリカンとの結合性について酵素抗体法および細胞結合実験法などを用いて検討した。

【方法ならびに結果】

プレート上に固相化したウシ関節軟骨由来アグリカンおよびラット軟骨肉腫由来アグリカンに対し CD44-IgG の結合実験を行った。CD44-IgG はいずれの固相化アグリカンとも結合し、その結合はコンドロイチナーゼによるアグリカンの前処理によって消失した。一方ヒアルロニダーゼ、ケラタナーゼによる前処理では結合は影響されず、CD44-IgG とアグリカンの結合にはアグリカン上の CS 側鎖が関与していると考えられた。また抗 CD44 モノクローナル抗体 BRIC235 共存下でその結合は阻害された。BRIC235 は CD44 の HA に対する結合阻害抗体であること、および、固相化 CD44 に対する結合において HA とアグリカンが互いに競合阻害することから、CD44 分子上のアグリカン結合部位は HA 結合部位と共通しているか近接している可能性が示唆された。アグリカンをコンドロイチナーゼ処理した分解産物の HPLC 解析によって、アグリカンの CS 側鎖は CS A ならびに CS C であることがわかった。

次に、CS A および CS C の還元末端にジパルミトイル-L- α -ホスファチジルエタノールアミンを結合させ、CS-リン脂質誘導体を作製した。これらの CS-リン脂質誘導体をプレート上に固相化して CD44-IgG との結合を検討したところ、脂質化 CS A および CS C は CD44-IgG と結合し、その結合は抗 CD44 抗体 BRIC235 によって阻害された。コアタンパクをもたない CS A、CS C でも CD44 結合能をもつことから、セルグリシン、アグリカン以外のプロテオグリカンも CS A あるいは CS C で修飾された場合には CD44 と結合しうる可能性が示唆された。

次に CD44 とアグリカンの結合が細胞接着に関与しうかどうか検討するため、固相化アグリカンに対し CD44 発現細胞の結合実験を行ったところ、CD44-IgG 結合実験と同様に CS 鎖依存性に結合がみられた。

さらに、アグリカンが CD44/Fas キメラタンパクを形質導入した AKR 1 細胞に細胞死のシグナルを伝達するか否かを検討した。CD44に対するモノクローナル抗体 IRAWB14.4の添加による CD44/Fas キメラ発現細胞への細胞死誘導は、アグリカンの添加により明らかに増強された。このことからアグリカンは細胞上に発現した CD44を架橋し多量体形成を誘導すると考えられた。

【総括】

CD44がアグリカンと CS 側鎖を介して結合することが示され、アグリカンによる CD44の多量体形成は細胞内へシグナルを伝達する可能性が示唆された。アグリカンは関節軟骨マトリックスの主成分であり、アグリカンと CD44の相互作用が関節炎症状の慢性化や悪化に関与している可能性が考えられる。また、CD44が CS 側鎖を持つ他のプロテオグリカンにも結合する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、CD44がアグリカン上の CS A および CS C 側鎖を介してアグリカンと結合すること、またその結合は細胞接着を媒介することが示されている。アグリカンは関節軟骨マトリックスの主成分のひとつであり、アグリカンが関節炎時の滑液中に多量に放出されていること、また炎症滑膜組織における CD44の発現上昇や関節炎病巣への白血球浸潤に CD44が関与することから、本研究は慢性関節リウマチの病態解明に少なからず寄与するものと思われる。CD44/Fas キメラ分子の遺伝子導入株を用いた細胞死誘導実験から、アグリカンが CD44の多量体形成を誘導する可能性が示されており、この結果に基づいて今後アグリカンが CD44を介してシグナル伝達に関与するか否かさらに検討を重ねる必要がある。さらに本研究においては、CD44が CS A または CS C 側鎖を持つ他のプロテオグリカンにも結合する可能性が示唆されており、今後新たな CD44結合性物質の発見が期待される。

以上、本研究の内容は学位の授与に値すると考えられる。