



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 ふじ もと たかし 敬
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16069 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、纖維芽細胞、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ール-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る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ヘ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症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。