



Title	Involvement of Gicerin in the Extension of Microvilli
Author(s)	奥村, 茂樹
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43700
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	おくむら しげき 奥村 茂樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 16804 号
学 位 授 与 年 月 日	平成14年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学 位 論 文 名	Involvement of Gicerin in the Extension of Microvilli (細胞表面微小突起の伸展に及ぼすギセリンの影響)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 三木 直正 (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 西宗 義武

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

ギセリンは、免疫グロブリンファミリーに属する細胞接着因子で、神経突起伸長因子 NOF の受容体としてニワトリ砂囊から単離された。ギセリンには、細胞内ドメインの長さの異なる2つの splicing variants (l-ギセリン、s-ギセリン) があり、l-ギセリンと s-ギセリンは、同一の細胞外ドメインと膜貫通ドメインを有し、細胞内ドメインのみが異なることを既に報告している。我々はこれまで、神経細胞におけるトリギセリンの機能について検討してきた。しかしながら、ギセリンは肺や心臓など、他の組織にも広く分布が認められ、これらの組織においても何らかの機能を有していると考えられる。最近、我々は、ラットおよびマウスギセリンをクローニングし、トリギセリンとラット・マウスギセリン間のアミノ酸配列を比較検討した。その結果、細胞内ドメインに特に高い相同性が認められた。これらの知見から、ギセリン細胞内ドメインが重要な役割を有していると考えられる。そこで本研究では、細胞内ドメインに焦点を当て、ラットギセリンの細胞機能に及ぼす影響について検討した。

【方法ならびに成績】

個々の細胞におけるギセリンの発現分布を検討した結果、マウスメラノーマ細胞株 B16細胞が、内因性に l-ギセリンを発現していること、細胞表面の微小突起 (microvilli) に l-ギセリンが局在していることが明らかとなった。

次に、マウス繊維芽細胞株 L細胞を用いて、ラット l-および s-ギセリンの stable transfectants を作成し、同様の検討を行った。その結果、l-ギセリンの長い微小突起への局在が認められたのに対し、s-ギセリンには、このような特徴的な分布は認められなかった。これらの結果は、l-ギセリンの微小突起伸長への関与を示唆しており、次に我々は、抗ギセリン抗体と抗モエシン抗体を用いてギセリン transfectants を染色し、微小突起の形態とギセリンの関係について検討した。モエシンは、微小突起への局在が報告されているため、ここでは微小突起のマーカー分子として用いた。その結果、コントロール細胞と比較して、l-ギセリン発現細胞では微小突起の伸長が認められ、また、微小突起上における l-ギセリンとモエシンの共局在性が認められた。しかしながら、s-ギセリン発現細胞では、コントロール細胞と比較して微小突起の長さに顕著な変化が認められず、s-ギセリンとモエシンとの共局在性もほとんど認められなかった。これら細胞染色の結果から、l-ギセリンが微小突起の伸長作用を有していることが明らかとなった。また、GST とギセリン細胞内ドメインの融合タンパクを作成し、L細胞の lysate から pull down assay を行った結果、

l-ギセリン細胞内ドメインとモエシンが結合していることが明らかとなった。さらに、l-ギセリン細胞内ドメインの deletion mutants を用いて同様の検討を行った結果、l-ギセリン細胞内ドメインの16-39番目までのアミノ酸配列が、微小突起の伸長ならびにモエシンとの結合に関与していることが明らかとなった。

微小突起は、アクチン細胞骨格による支持を受けていることから、ギセリンとアクチンフィラメントの関連について検討した。l-ギセリン染色像とローダミン・ファロイジンを用いた F-アクチン染色像には、微小突起先端部分における顕著な重複が認められたのに対し、s-ギセリンと F-アクチンの間には、このような特異的な染色像は認められなかった。これらの結果から、l-ギセリンとアクチン細胞骨格との相互作用が示唆された。

【総括】

l-ギセリンが細胞表面の微小突起伸長に関与していることが明らかとなった。このような作用は、s-ギセリンには認められないことから、l-ギセリン細胞内ドメインが、細胞表面構造の形成に重要な役割を担っていることが明らかとなった。また、l-ギセリンの微小突起伸長作用には、l-ギセリン細胞内ドメインとモエシンの結合、それに続くアクチン細胞骨格との相互作用が関わっていることが示唆された。これまで、ギセリンの研究は、主として細胞接着など、細胞外ドメインに関して行われてきたが、本研究の結果から、ギセリン細胞内ドメインの細胞形態に対する重要性が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本論文は、培養細胞における l-ギセリンと s-ギセリンの機能的差異を検討し、l-ギセリンが、細胞表面微小突起の伸長作用を有すること、また、s-ギセリンと比較して、l-ギセリンがアクチン細胞骨格系との強い相互作用を有することを明らかにした。さらに、このような l-ギセリンの微小突起伸長作用には、l-ギセリン細胞内ドメインと ERM ファミリーのリンカータンパク質であるモエシンとの結合が重要であることを示した。また、l-ギセリン細胞内ドメインの deletion mutants を作成し、同様の検討を行った結果、l-ギセリン細胞内ドメインの16番目から39番目までのアミノ酸配列が、微小突起の伸長、ならびに、モエシンとの結合に関与していることを明らかにした。

以上の結果は、l-ギセリンがモエシンを介して細胞骨格系と相互作用し、細胞表面構造の変化に積極的に関与している可能性を示唆するものである。

微小突起は、白血球などの表面に多数形成され、血管内皮細胞上の接着因子との接着に関与していると推察されている。本研究は、ギセリンという免疫グロブリンファミリーに属する接着因子と細胞表面微小突起の関係を新たに明らかにし、接着因子と細胞の表面構造、ならびに、細胞間相互作用を検討する上で重要な知見を提供するものと考えられる。よって、本論文は、学位の授与に値するものと考えられる。