



Title	ATP-binding Cassette Transporter-1 Induces Rearrangement of Actin Cytoskeletons Possibly through Cdc42/N-WASP
Author(s)	塚本, 幸資
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43781
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	塚 本 幸 資
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 8 4 5 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 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	ATP-binding Cassette Transporter-1 Induces Rearrangement of Actin Cytoskeletons Possibly through Cdc42/N-WASP (ABC トランスポーター ABCA1と低分子量Gタンパク質 Cdc42の機能的関連)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 荻原 俊男 教 授 高井 義美

論 文 内 容 の 要 旨

【背景と目的】

高比重リポ蛋白 (HDL) を介した動脈硬化防御機構として血管壁に蓄積したコレステロールをくみ出し、最終的に肝臓へと輸送するいわゆるコレステロール逆転送系が重要である。コレステロール引き抜きの障害のモデル疾患であるタンジール病において ABC トランスポーターの 1 つである ABCA1 の変異が報告され、コレステロール引き抜きの分子機構の一端が明らかとなってきた。一方、タンジール病では、アクチン細胞骨格の異常が報告されているが、我々はそれを制御すると考えられている低分子量 G タンパク質 Cdc42 の発現が患者由来細胞で低下しており、その低下がコレステロール引き抜きの低下に関与することを明らかにした。

本研究では、ABCA1 と Cdc42 の機能的関連を明らかにするため、以下の検討を行った。

【方法ならびに成績】

1) ヒト ABCA1 cDNA の発現とコレステロール引き抜き

ヒト ABCA1 cDNA は RT-PCR 法によりクローニングし、HEK293細胞に一過性過剰発現させた。コレステロールの引き抜きは ABCA1 の過剰発現により亢進し、我々のクローニングした ABCA1 が正常に機能していることが確認された。

2) ABCA1 による HEK293細胞の形態変化

ABCA1 の過剰発現により HEK293細胞は、糸状仮足の増加したもの、長い突起をもつものの 2 種類の特徴的な形態を呈した。これらはそれぞれ Cdc42 の dominant active 変異体、Cdc42 の effector 分子である N-WASP の過剰発現細胞と極めて類似した形態変化であった。

3) ABCA1 による HEK293細胞の形態変化の Cdc42 dominant negative 変異体と N-WASP Δ VPH 変異体による抑制

ABCA1 と Cdc42 dominant negative 変異体または ABCA1 と N-WASP Δ VPH 変異体 (N-WASP のアクチン単量体と結合する VPH 領域を欠失した変異体) を共発現する HEK293細胞では、そのいずれにおいても ABCA1 による形態変化が著明に抑制され、ABCA1 による形態変化が Cdc42/N-WASP を介する可能性が考えられた。

4) ABCA1 と Cdc42 の相互作用の解析

一過性過剰発現の系において ABCA1 と Cdc42 は免疫沈降法により共沈され、共焦点レーザー顕微鏡での観察でも両者は共通する細胞内局在を示し、両者の間に相互作用があることが示唆された。

【総括】

我々はコレステロール引き抜きのモデル疾患であるタンジール病の解析より低分子量 G タンパク質 Cdc42 の発現低下がコレステロール引き抜きの障害と密接に関連していることを明らかにしてきた。今回の研究では、ABCA1 と Cdc42 の機能的関連がコレステロール引き抜きのみでなく、Cdc42/N-WASP を介してアクチン細胞骨格を制御していることが示された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、コレステロール逆転送系の最初のステップであるコレステロール引き抜き異常のモデル疾患であるタンジール病の原因遺伝子である ABCA1 とアクチン細胞骨格の制御に関与すると考えられている低分子量 G タンパク質 Cdc42 の機能的関連を世界で初めて明らかにしたものである。タンジール病の表現型の解析より、ABCA1 はコレステロール引き抜きの促進以外の多彩な機能を有することが示唆されていたが、今回、ABCA1 の新たな機能として細胞の形態変化に関与することを明らかにし、この機能はさらに低分子量 G タンパク質 Cdc42 およびその effector 分子である N-WASP を介して制御されている可能性が示された。また、Cdc42 はコレステロール引き抜きを制御することが示唆されており、この ABCA1 と Cdc42 の機能的関連が細胞内外の脂質調節機構にも関与する可能性が考えられる。この発見はタンジール病の表現型形成機構の解明に寄与するだけでなく、広く脂質代謝機構の解明に新しい洞察を与えるものであり、本研究は極めて意義深く、学位に十分値するものである。