

Title	細胞間接着および細胞内アクチン骨格の制御における膜4回貫通型蛋白質CD151の役割
Author(s)	茂田, 昌樹
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/44054">http://hdl.handle.net/11094/44054</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	しげ た ま き 茂 田 昌 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 17538 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	細胞間接着および細胞内アクチン骨格の制御における膜 4 回貫通型蛋白質 CD151 の役割
論文審査委員	(主査) 教授 関口 清俊 (副査) 教授 岡田 雅人 教授 八木 健

#### 論 文 内 容 の 要 旨

テトラスパニンとは、細胞外領域に Cys-Cys-Gly モチーフを有する膜 4 回貫通型蛋白質ファミリーで、線虫で 20 種、ショウジョウバエで 37 種、哺乳類では 27 種以上の分子種が存在する。これらのテトラスパニンは細胞の運動や分化、卵-精子の融合、癌細胞の転移などに関与することが報告されているが、その生理機能に関しては未だ不明な点が多い。上皮細胞では、一部のテトラスパニンはインテグリンと複合体を形成し、細胞間および細胞-基質間の接着部位に分布する。多くのインテグリンが細胞外マトリックス受容体として機能していることから、テトラスパニンに関するこれまでの研究は細胞-基質間の接着や基質上での細胞の移動に注目したものが多かった。しかし、テトラスパニンは細胞-基質接着面よりも細胞間接着部位により強く局在しており、上皮細胞同士の細胞間接着においても何らかの役割を果たしている可能性が高い。本研究では、上皮組織で豊富に発現するテトラスパニン CD151 に注目し、その細胞間接着部位における機能を明らかにすることを目的として研究を行った。具体的には、cDNA 強制発現系と抗 CD151 抗体を用いて、細胞間接着とアクチン細胞骨格の制御における CD151 の役割を検証した。

CD151 を過剰発現させた細胞は、対照の細胞と比較して上皮様コロニーの形成が有意に促進していた。また CD151 過剰発現細胞では「創傷部位の閉鎖」が有意に遅延していたが、個々の細胞の遊走活性は対照細胞と差が認められないことから、この遅延は細胞間接着の亢進によるものと考えられた。一方、CD151 抗体で前処理した細胞を基質上に播種すると、細胞間接着面に均一に分布していた CD151 の凝集がおこり、これに伴って細胞膜裏打ちアクチン線維と ZO-1 を指標とした細胞の極性化が強く阻害された。E-cadherin の細胞間接着部位への局在化は CD151 抗体処理によって余り影響を受けなかった。また、CD151 抗体をあらかじめ固相化した基質上に細胞を播種し、CD151 を基質接着面で捕捉すると、細胞間接着が阻害されるだけでなく、細胞の周囲に多数の糸状仮足が誘導された。このような糸状仮足の形成は、間葉系細胞では観察されず上皮系細胞に特異的であった。さらに、固相化した CD151 抗体により誘導される糸状仮足の誘導は、PKC および Cdc42 に依存することが判明した。一方、CD151 過剰発現細胞における Rho ファミリー G 蛋白質の活性化を調べた結果、Cdc42 だけでなく、Rac も強く活性化していることがわかった。Rac の活性化は細胞膜裏打ちアクチン線維の形成を促進することが報告されており、カテニンを介した細胞膜裏打ちアクチン線維へのカドヘリンの結合を促進することによって細胞間接着を増強することが期待される。実際、界面活性剤に対する E-カドヘリンの不溶化度を指標として、細胞膜裏打ちアクチン線維に結合した E-カドヘリンの割合を

CD151 過剰発現細胞と対照細胞とで比較した結果、CD151 過剰発現細胞では細胞膜裏打ちアクチン線維への E-カドヘリンの結合が有意に増加していた。以上の結果は、CD151 の過剰発現が PKC 依存的に Cdc42 および Rac の活性化を促進し、その結果として E-カドヘリンの細胞膜裏打ちアクチン線維への結合を促進することにより、細胞間接着が増強されることを強く示唆している。

#### 論文審査の結果の要旨

膜 4 回貫通型蛋白質ファミリーテトラスパニンの一つである CD151 は、インテグリン等の膜蛋白質と複合体を形成し、上皮細胞の細胞間接着部位に局在することが知られている。本論文では、green fluorescent protein (GFP) で標識した CD151 の強制発現系と CD151 に対するマウス単クローン抗体を利用し、細胞間接着部位における CD151 の生理機能の解析を行っている。申請者は、CD151 の過剰発現により上皮細胞の細胞間接着および細胞極性化が有意に亢進することを見いだす一方、CD151 から Rho ファミリー GTPase である Cdc42 と Rac の選択的活性化を通じて細胞膜裏打ちアクチン骨格の再構築を促進するシグナルが伝達されることを生化学的および細胞生物学的手法を駆使して明らかにした。これらの結果は、CD151 が細胞膜裏打ちアクチン骨格の制御を通じて上皮細胞の細胞間接着の制御に関与していることを強く示唆している。本研究は、このように CD151 の細胞間接着部位での生理機能の解明に大きく貢献するものであり、博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。