The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Involvement of nectin in the localization of IQGAP1 at the cell-cell adhesion sites through the actin cytoskeleton in Madin-Darby canine kidney cells
Author(s)	堅田, 龍生
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45323
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

【29】

氏　　名	堅　田　龍　生（かた　た　たつ　お）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８４５７　号
学位授与年月日	平成 16 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	Involvement of nectin in the localization of IQGAP1 at the cell-cell adhesion sites through the actin cytoskeleton in Madin-Darby canine kidney cells **(MDCK 細胞の細胞間接着部位における IQGAP1 の局在に対するアクチン細胞骨格を介したネクチンの役割)**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　高井　義美 （副査） 教　授　金倉　　譲　　教　授　米田　悦啓

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕

細胞間接着の制御機構の解明は、がん細胞の浸潤・転移を理解する上で重要である。IQGAP1 は Cdc42 と Rac の標的タンパク質で、上皮細胞ではカドヘリン－カテニン系を介してアドヘレンスジャンクション（AJ）に局在し、細胞間接着の制御に関与することが示されている。AJ の細胞間接着機構にはカドヘリン－カテニン系以外にネクチン－アファディン系が存在する。ネクチンは免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子であり、アクチンフィラメント結合タンパク質アファディンを介して、アクチン細胞骨格に連結している。本研究では、ネクチン－アファディン系と IQGAP1 局在の関係について解析した。

〔方法ならびに結果〕

カルシウムスイッチによる細胞間接着の再形成における IQGAP1 の局在についての検討

MDCK 細胞を通常カルシウム濃度（2 mM）で培養すると、IQGAP1 はネクチン、カドヘリンとともに細胞間接着部位に濃縮した。この MDCK 細胞を低カルシウム濃度（2 μM）で培養すると、細胞が丸くなり、細胞間接着部位におけるカドヘリンの染色は消失する。しかしながら、ネクチンによる細胞間接着はこの条件下でも一部残っており、IQGAP1 は残存するネクチン接着部位に残っていた。その後、通常カルシウム濃度（2 mM）に戻すと、ネクチンによる接着が再形成され、カドヘリンおよび IQGAP-1 はネクチンの接着部位に濃縮した。このとき、ネクチンインヒビター存在下で通常カルシウム濃度にもどすと、ネクチンの接着の再形成が阻害され、カドヘリンおよび IQGAP-1 の接着部位への濃縮は認められなかった。以上の結果から、IQGAP1 はネクチンの形成する接着部に、ネクチンに依存して局在することが明らかになった。

ネクチンビーズと細胞の接触面への IQGAP1 の局在についての検討

IQGAP1 がネクチンの接着部に濃縮するには、ネクチンのトランス結合だけで十分であるかを検討した。ネクチンをコートしたビーズと MDCK 細胞の間でネクチンだけの接着を形成させると、ビーズと MDCK 細胞の接触面にネクチンとともに IQGAP1 が濃縮した。以上のことから、ネクチンによるトランス結合は、IQGAP1 が細胞間に局在す

るのに十分であることが明らかになった。

アクチン重合阻害剤処理による IQGAP1 の局在についての検討

IQGAP-1 はアクチンフィラメント結合タンパク質として報告されているので、次に細胞間接着部位における IQGAP1 の局在にアクチン細胞骨格が必要であるかを検討した。通常カルシウム濃度(2 mM)で培養している MDCK 細胞を、アクチン重合阻害剤である latrunculin A 処理をすると、細胞は扁平になり細胞間接着部位でのアクチンの染色が消失する。このとき、細胞間接着部位におけるネクチンの染色は変化がなかったが、IQGAP1 の染色は消失した。次に、MDCK 細胞を低カルシウム濃度（2μM）で培養した後 latrunculin A 処理をすると、細胞膜上でのアクチン、IQGAP1 の染色はほとんど消失したが、ネクチンの染色は接着部位に残っていた。この細胞を latrunculin A 存在下で通常カルシウム濃度（2 mM）で培養すると、ネクチンによる接着が再形成されたが、IQGAP1 は接着部位に濃縮しなかった。以上の結果から、細胞間接着部位における IQGAP1 の局在にはアクチンが必要であることが明らかになった。

〔総括〕

私は、IQGAP1 の細胞間接着部位への局在は、これまで報告されていたカドヘリン－カテニン系との直接の結合ではなく、ネクチン－アファディン系によりアクチン依存的に決定されることを明らかにした。IQGAP1 はアファディン系が制御するアクチン細胞骨格構造を認識することにより、細胞間接着部位に局在する可能性がある。また、ネクチンのトランス結合は Cdc42 と Rac を活性化することから、IQGAP1 はネクチンによって活性化された Cdc42 や Rac を認識することにより細胞間接着部位に局在する可能性がある。細胞間接着部位における IQGAP1 の機能は明らかになっていないが、IQGAP1 はネクチン－アファディン系、Cdc42 と協調的に作用して細胞間接着部位における特殊なアクチン細胞骨格構造の形成に関与している可能性が考えられる。

論文審査の結果の要旨

IQGAP1 は低分子量 G タンパク質 Cdc42 と Rac の標的タンパク質で、上皮細胞ではカドヘリン－カテニン系を介してアドヘレンスジャンクション（AJ）に局在し、細胞間接着の制御に関与することが示されている。AJ の細胞間接着機構にはカドヘリン－カテニン系以外にネクチン－アファディン系が存在する。

本申請者は、本研究において、IQGAP1 とネクチン－アファディン系の局在関係について解析し、IQGAP1 の細胞間接着部位への濃縮はネクチンに依存していること、およびネクチンによるトランス結合は IQGAP1 を細胞間接着部位へリクルートするのに十分であることを見出した。また、IQGAP1 の細胞間接着部位への濃縮はアクチン細胞骨格に依存していることを見出した。以上の結果から、IQGAP1 の細胞間接着部位への局在は、これまで報告されていたカドヘリン－カテニン系との直接の結合ではなく、ネクチン－アファディン系によりアクチン依存的に決定されることを明らかにした。

本研究は、実験結果自体の意義もさることながら、今後の発展性にも期待できるものがあり、生命科学への貢献度が極めて高い研究であると言える。したがって、学位授与に十分値すると考えられる。