



Title	Role of the second immunoglobulin-like loop of nectin in cell-cell adhesion
Author(s)	百瀬, 由実子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45337
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	百瀬由実子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第18454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	Role of the second immunoglobulin-like loop of nectin in cell-cell adhesion. (細胞間接着におけるネクチンの2番目の免疫グロブリン様ループの役割)
論文審査委員	(主査) 教授 高井 義美 (副査) 教授 中村 敏一 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

[目的]

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カルシウム非依存性の細胞間接着分子であり、上皮細胞や線維芽細胞においてカドヘリンと協調してアドヘレンスジャンクションを形成している。ネクチンはネクチン-1、-2、-3、-4の4種のメンバーからなるファミリーを構成しており、それぞれスプライシングバリエントをもっている。すべてのネクチンはひとつの膜貫通領域をもち、細胞外領域には3つの免疫グロブリン様ループをもっている。これまでの研究から、ネクチンはまずシス二量体を形成して、向かい合った細胞同士のシス二量体を形成したネクチンがトランクに結合することでトランク二量体を形成し、細胞間接着を形成することが明らかになっている。今回私は、ネクチンの機能を解明する目的で、細胞間接着におけるネクチンの免疫グロブリン様ループの役割を解析した。

[方法ならびに成績]

ネクチンの3つの免疫グロブリン様ループをそれぞれ欠損させた変異体 $\Delta Ig1$ 、 $\Delta Ig2$ 、 $\Delta Ig3$ を作製してCOS-7細胞で発現させた。これらの細胞株にクロスリンク剤BS3を作用させ、それぞれの変異体のシス二量体が形成されているかを抗ネクチン抗体によるウエスタンブロッティング法で確認した。その結果、変異体 $\Delta Ig1$ と $\Delta Ig3$ は二量体を形成するが、変異体 $\Delta Ig2$ は二量体を形成しないことが判明した。また、カドヘリンが欠損し、細胞間接着をほとんどもたないL細胞にそれぞれの変異体を発現させた細胞株を樹立した。変異体 $\Delta Ig2$ を安定に発現させたL細胞を用いて、シス二量体を形成しているかを検討したところ、COS-7細胞を用いたときと同様の結果が得られた。これらの結果より、二番目の免疫グロブリン様ループがシス二量体形成に必要であることが判明した。次に、変異体 $\Delta Ig2$ を安定に発現したL細胞を用いて細胞凝集アッセイをおこない、トランク二量体ができるかを検討した。L細胞は凝集塊を形成しなかったが、完全長のネクチンを発現させたL細胞では、ネクチンがトランク二量体を形成するため細胞が凝集した。変異体 $\Delta Ig2$ を発現させたL細胞は、L細胞と同様に、細胞塊を形成しなかった。この結果より、二番目の免疫グロブリン様ループがトランク二量体形成に必要であることが明らかとなった。次に、完全長および変異体 $\Delta Ig2$ を発現したL細胞の細胞間接着部位を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。完全長のネクチンを発現させたL

細胞では、ネクチンのシグナルが細胞間接着部位に濃縮していたが、変異体 Δ Ig2を発現させたL細胞では、ネクチンのシグナルは細胞間接着部位に濃縮していなかった。これらの結果を合わせて、二番目の免疫グロブリン様ループがトランス二量体形成にも必要であることが判明した。

[総括]

本研究では、細胞間接着分子であるネクチンの何番目の免疫グロブリン様ループがシス二量体を形成するのに必須であるかを検討した。クロスリンク剤を使った実験によって、二番目の免疫グロブリン様ループを欠損した変異体が、シス二量体を形成しないことが明らかになった。また、細胞凝集アッセイと共に焦点レーザー顕微鏡を用いた解析によって、二番目の免疫グロブリン様ループを欠損した変異株がトランス二量体を形成しないことが解明された。以上の結果から、ネクチンの二番目の免疫グロブリン様ループがシス二量体の形成に必須であること、さらにこのシス二量体の形成がトランス二量体の形成にも必須であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

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カルシウム非依存性の細胞間接着分子であり、上皮細胞や線維芽細胞においてカドヘリンと協調してアドヘレンスジャンクションを形成している。ネクチンはまずシス二量体を形成して、向かい合った細胞同士のシス二量体がトランスに結合することで細胞間接着を形成することが明らかになっている。

申請者は、本研究において、細胞間接着におけるネクチンの免疫グロブリン様ループの役割を解析した。クロスリンク剤を使った実験によって、二番目の免疫グロブリン様ループを欠損した変異体が、シス二量体を形成しないことを見出した。また、細胞凝集アッセイと共に焦点レーザー顕微鏡を用いた解析によって、二番目の免疫グロブリン様ループを欠損した変異体がトランスに結合しないことを見出した。以上の結果から、ネクチンの二番目の免疫グロブリン様ループがシス二量体の形成に必須であること、さらにこのシス二量体の形成がトランスの結合にも必須であ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いえる。したがって、学位授与に十分値すると考えられる。