



Title	A Novel Role of Nectins in Inhibition of the E-Cadherin-induced Activation of Rac and Formation of Cell-Cell Adherens Junctions
Author(s)	星野, 崇
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45437
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	ほしの 野 たかし 崇
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 2 6 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 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	A Novel Role of Nectins in Inhibition of the E-Cadherin-induced Activation of Rac and Formation of Cell-Cell Adherens Junctions (E-カドヘリンによる Rac の活性化と細胞間アドヘレンスジャンクションの形成に対するネクチンの新規抑制作用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 高井 義美 (副査) 教 授 八木 健 教 授 宮坂 昌之

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

ネクチンは Ca^{2+} に非依存的な免疫グロブリン様の細胞間接着分子であり、E-カドヘリンと相互作用し協調的にアドヘレンスジャンクション (AJ) を形成することが明らかになっている。しかし、ネクチンと E-カドヘリンの相互作用の分子機構は未だ十分解明されていない。AJ 形成時に、E-カドヘリンのトランス結合は Rac を活性化するのに対して、ネクチンのトランス結合は Cdc42 と Rac を活性化することが明らかになっている。本研究では、ネクチンが E-カドヘリンのトランス結合による Rac の活性化に与える影響について検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

FRET (蛍光共鳴エネルギー移動) イメージングを用いた E-カドヘリンによるラメリポディア形成における Rac の活性化の観察

E-カドヘリンの細胞外ドメインをヒト IgG Fc 領域に融合させたキメラタンパク質 Cef を作製した。Cef をコートしたディッシュに、E-カドヘリンを発現させた L 線維芽細胞 (EL 細胞) をシングル細胞の状態で培養すると、ラメリポディアを形成した。同様に、Cef をコートしたディッシュに、FRET プローブを発現した EL 細胞を培養すると、ラメリポディアを形成すると同時に Rac が活性化された。一方、ラメリポディアが縮むと同時に Rac の活性化が見られなくなった。以上の結果から、このアッセイ系がラメリポディアの伸縮に伴った Rac の活性化を観察するのに使用できることが明らかとなった。

E-カドヘリンのトランス結合による Rac の活性化に対するネクチンの作用

Cef をコートしたディッシュに、ネクチン-1 と E-カドヘリンを発現させた L 線維芽細胞 (ネクチン-1-EL 細胞) を培養した。この細胞はラメリポディアの形成も Rac の活性化も見られなかった。一方、Cef をコートしたディッシュに、活性型 Rac を発現させたネクチン-1-EL 細胞を培養すると、ラメリポディアを形成した。以上の結果から、トランス結合をしていないネクチンは E-カドヘリンのトランス結合による Rac の活性化を抑制することが明らかとなった。次に、トランス結合をしていないネクチンによる Rac の活性化の抑制効果が、ネクチンがトランス結合をする

ことで解除されるかどうかを検討した。Cef とネクチン-3 の細胞外フラグメントである Nef-3 の両方でコートしたディッシュに、ネクチン-1-EL 細胞を培養すると、ラメリボディアとフィロポディアが形成され、それぞれ Rac と Cdc42 が活性化された。上皮細胞を用いた実験でも同様の結果が得られた。以上の結果から、この抑制効果は、ネクチンのトランス結合によって活性化される Cdc42 により解除されることが明らかとなった。

トランス結合しないネクチンによる E-カドヘリンを介した細胞間接着形成の解析

トランス結合しない変異型ネクチンを発現させた MDCK 細胞を作製した。この細胞を正常 Ca^{2+} 濃度で培養すると、E-カドヘリンは細胞間接着部に濃縮した。次に、低 Ca^{2+} 濃度で培養すると、接着部に濃縮していた E-カドヘリンは消失した。続いて正常 Ca^{2+} 濃度で培養すると、変異型ネクチンを発現させた細胞は、変異型ネクチンを発現していない細胞に比べて E-カドヘリンの接着部への濃縮が遅延した。以上のことから、トランス結合をしていないネクチンは、E-カドヘリンによる AJ の形成速度を低下させることが明らかとなった。

[総括]

上皮組織のシート構造を形成するためには、上皮細胞同士が AJ を形成することが重要である。この AJ 形成に、トランス結合しているネクチンが、トランス結合している E-カドヘリンと協調して、Cdc42 と Rac を活性化することが重要であることを明らかにしている。今回、私は、トランス結合していないネクチンが、E-カドヘリンのトランス結合による Rac の活性化を阻害することで、AJ 形成を抑制することを見出した。また、ネクチンがトランス結合している場所において E-カドヘリンがトランス結合し、AJ 形成を促進するのに対し、ネクチンがトランス結合していない場所では E-カドヘリンのトランス結合を阻害し、AJ 形成を抑制した。このことは、ネクチンのトランス結合が E-カドヘリンのトランス結合を許可するスイッチとして働いているということである。この機構により、E-カドヘリンのトランス結合する場所を調節することで、AJ が形成される場所を決めている可能性がある。以上のことから、ネクチンはそのトランス結合の状態により、E-カドヘリンのトランス結合を調節することで、AJ 形成を制御していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

細胞間接着分子ネクチンは、E-カドヘリンと相互作用し協調的にアドヘレンスジャンクション (AJ) を形成することが明らかになっている。しかし、ネクチンと E-カドヘリンの相互作用の分子機構は未だ十分解明されていなかった。AJ 形成時に、E-カドヘリンのトランス結合は Rac を活性化するのに対して、ネクチンのトランス結合は Cdc42 と Rac を活性化することが明らかになっている。

本申請者は、本研究において、トランス結合をしていないネクチンに注目し、E-カドヘリンのトランス結合による Rac の活性化に与える影響について検討した。

その結果、トランス結合していないネクチンが、E-カドヘリンのトランス結合による Rac の活性化を阻害することで、AJ 形成を抑制することを見出した。

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、学位に値すると考える。