



Title	Cooperation of Syndecan-2 and Syndecan-4 among Cell Surface Heparan Sulfate Proteoglycans in the Actin Cytoskeletal Organization of Lewis Lung Carcinoma Cells
Author(s)	草野, 由理
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45977
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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 ^{くさの みずの ゆ り} 草野 (水野) 由 理

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19052 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 16 年 10 月 21 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 名 Cooperation of Syndecan-2 and Syndecan-4 among Cell Surface Heparan Sulfate Proteoglycans in the Actin Cytoskeletal Organization of Lewis Lung Carcinoma Cells
(マウス・ルイス肺癌細胞のアクチン細胞骨格形成において細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカンのうちシンデカン-2とシンデカン-4が協調作用する)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 宮坂 昌之

(副査)
教 授 谷口 直之 教 授 祖父江憲治

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

本論文は、複数種の細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカンを発現しているマウス、ルイス肺癌由来の転移能の異なる細胞株を用いて、フィブロネクチン基質接着依存的アクチン細胞骨格形成の差異を指標に、シンデカン分子それぞれの受容体機能の特異性を明らかにすることを目的としている。

研究の背景：細胞外マトリックスに対する細胞接着が発生における形態形成、生体組織の恒常性維持、創傷治癒、癌転移及び浸潤過程に重要な役割を果たすことは周知の事実である。細胞外マトリックス受容体として、インテグリンの研究が先行し、近年、インテグリンと協調的に作用する受容体としてシンデカンが着目されてきた。細胞膜貫通型ヘパラン硫酸プロテオグリカンであるシンデカンは、4分子種からなるファミリーを構成しており、ヘパラン硫酸側鎖を介して細胞外マトリックス分子や細胞増殖因子と結合する。その発現様式に時間的、空間的制御が観察されていることから、シンデカン分子間には役割分担があることが想定されているが、現在、個々の分子の機能特異性は明確に示されていない。これまで私たちは、マウス、ルイス肺癌由来の複数の細胞株を用いて、シンデカン-2 がインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を介したフィブロネクチン基質接着依存的なシグナル伝達を制御することを明らかにしてきた。研究の過程でこれらの細胞株に複数種の細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン mRNA 発現を認めた。そこでこれらの細胞株を用いて、細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン分子間の機能特異性を解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

〔方法〕細胞：マウス、ルイス肺癌から株化したシンデカン-2 高、低発現株を用いた。さらに、両株細胞のシンデカン-2 発現を操作した細胞として、前者にシンデカン-2 タンパク芯アンチセンスヌクレオチド処理したもの、また後者にシンデカン-2 タンパク芯 cDNA を遺伝子導入した変異細胞を用いた。

シンデカン 4 分子種に対する抗体：シンデカン-1~4 のタンパク芯細胞外ドメインの組換えペプチドに対する特異抗体を作成し、分子同定及び接着基質として用いた。

バイオアッセイ：フィブロネクチン及びその組換えペプチド、抗シンデカン抗体を種々の組み合わせで基質とし、各

細胞の基質接着依存的アクチン細胞骨格形成の差異から、受容体活性を同定した。

〔結果〕

- 1) シンデカン-2 高、低発現株細胞は細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカンとしてシンデカン-1、-2、-4 及びグリピカン-1 を発現していることを明らかにした。
- 2) シンデカン-1 及びグリピカン-1 がフィブロネクチン基質接着依存的アクチン細胞骨格形成に関与しないことを明らかにした。
- 3) シンデカン-4 はフィブロネクチン基質接着依存的なインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ のシグナル伝達を修飾できるが、それにはシンデカン-2 の発現が必須であることを明らかにした。
- 4) このシグナル伝達系において、シンデカン-2 はシンデカン-4 の下流で機能することを明らかにした。

〔 総 括 〕

本研究の特徴は、同一細胞表層上に発現しているすべての細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン分子種を固定したこと、さらにフィブロネクチン基質接着依存的なインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ のシグナル伝達を制御する受容体活性を指標にすることにより、それらに機能特異性があることを明らかにしたことである。本研究結果から、発現が同定された 4 分子種のうち、インテグリン $\alpha 5 \beta 1$ の結合情報を制御するのはシンデカン-2 と-4 の 2 分子であり、シンデカン-1 及びグリピカンは関与しないことが明らかになった。この結果は、同時に発現している細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカンに役割分担があることを、細胞レベルで明確に示した最初のものである。さらにシンデカン-2 と-4 のシグナル伝達系における階層性の証明はシンデカン分子間の機能特異性のみならず、分子間のクロストークの存在を示す初めてのものである。

論文審査の結果の要旨

本論文は、複数種の細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカンを発現しているマウス、ルイス肺癌由来の転移能の異なる細胞株を用いて、フィブロネクチン基質接着依存的アクチン細胞骨格形成の差異を指標に、シンデカン分子それぞれの受容体機能の特異性を明らかにすることを目的としている。

マウス、ルイス肺癌から株化したシンデカン-2 高、低発現株、及び、両株細胞のシンデカン-2 発現を操作した細胞を使用し、作成したシンデカン-1~4 のタンパク芯細胞外ドメインの組換えペプチドに対する特異抗体を接着基質として用い、各細胞の基質接着依存的アクチン細胞骨格形成の差異から、受容体活性を同定することにより検討した。その結果、細胞膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン分子それぞれに機能特異性があること、さらに、シンデカン分子間でのシグナル伝達系に階層性があり、シンデカン-4 からのシグナルはシンデカン-2 の発現量に依存していることを明らかにした。よって、学位に値するものと考ええる。