

Title	Studies on the Ligand-binding Specificities and Regulatory Mechanisms of Laminin-binding Integrins
Author(s)	西内, 涼子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46465
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	にし うち りょう こ 西 内 涼 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 19859 号
学位授与年月日	平成 17 年 12 月 26 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	Studies on the Ligand-binding Specificities and Regulatory Mechanisms of Laminin-binding Integrins (ラミニン結合性インテグリンの結合特異性とその制御機構の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 関口 清俊 (副査) 教授 岡田 雅人 教授 高木 淳一

論 文 内 容 の 要 旨

基底膜は、上皮細胞と結合組織の間に存在する細胞マトリックスのシートである。その主要な構成蛋白質の1つがラミニンで、上皮細胞の増殖・分化・移動を制御している。ラミニンは α 鎖、 β 鎖、 γ 鎖から成り、それらの組合せにより 12 種類以上のアイソフォームが存在する。ラミニンの細胞表面受容体の1つにインテグリンが挙げられる。インテグリンは α 鎖と β 鎖が非共有的に結合した膜貫通蛋白質で、24 種類のインテグリンの内 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ 、 $\alpha 7\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 4$ がラミニンへ特異的に結合する。インテグリンはラミニンの α 鎖と結合することが知られているが、各ラミニン結合性インテグリンとラミニンアイソフォームとの詳細な結合特異性の解析はほとんど行われていなかった。また、ラミニン結合性インテグリンはテトラスパニンと呼ばれる膜4回貫通蛋白質と会合することが知られており、特にインテグリン $\alpha 3\beta 1$ とテトラスパニン CD151 は安定な複合体を形成する。しかし、CD151 の結合が $\alpha 3\beta 1$ のリガンド結合活性に影響を与えるかどうかは不明であった。そこで本研究は、ラミニン結合性インテグリンを精製してラミニンに対する結合特異性を同定すること、そしてテトラスパニン CD151 が $\alpha 3\beta 1$ のリガンド結合活性へ影響を与えるかどうかを明らかにすることを目的とした。

まずヒト胎盤からインテグリン $\alpha 3\beta 1$ と $\alpha 6\beta 1$ を精製し、5種類のラミニン α 鎖を持つ代表的なラミニン(ラミニン-1 [$\alpha 1$]、ラミニン-2/4 [$\alpha 2$]、ラミニン-5 [$\alpha 3$]、ラミニン-8 [$\alpha 4$]、ラミニン-10/11 [$\alpha 5$])との結合活性を測定した。しかし胎盤から精製したのは $\alpha 3\beta 1$ と $\alpha 6\beta 1$ のみであり、他のラミニン結合性インテグリンも含めた網羅的な解析を行うため、ラミニン結合性インテグリンすべてを組換え体として哺乳動物細胞で発現・精製し、代表的なラミニンとの結合活性を測定した。ただし、 $\alpha 7$ 鎖には細胞外領域に $\alpha 7X1$ 、 $\alpha 7X2$ と呼ばれる2つのアイソフォームが存在するため、 $\alpha 7X1\beta 1$ と $\alpha 7X2\beta 1$ の両方を発現・精製した。その結果、 $\alpha 3\beta 1$ と $\alpha 6\beta 4$ はラミニン-5とラミニン-10/11へ特異的に結合し、対照的に $\alpha 6\beta 1$ はすべてのラミニンアイソフォームと結合することが明らかとなった。また $\alpha 7X1\beta 1$ と $\alpha 7X2\beta 1$ はラミニン-5へ結合せず、どちらもラミニン-2/4へ結合したが、 $\alpha 7X1\beta 1$ はラミニン-10/11へ、 $\alpha 7X2\beta 1$ はラミニン-1へも強く結合することがわかった。

また胎盤から $\alpha 3\beta 1$ を精製した際、CD151と複合体を形成していることが判明した。CD151抗体 8C3を用いて $\alpha 3\beta 1$ -CD151複合体からCD151を解離させ、ラミニンへの結合活性を測定したところ、 $\alpha 3\beta 1$ -CD151複合体と比

べて CD151 を解離させた $\alpha 3 \beta 1$ では有意にラミニンへの結合活性が減少していた。さらに、CD151 を解離させた $\alpha 3 \beta 1$ へ CD151 を再結合させたところ、ラミニンへの結合活性が元の $\alpha 3 \beta 1$ -CD151 複合体と同程度にまで回復した。また、CD151 を $\alpha 3 \beta 1$ から解離させた CD151 抗体 8C3 を用いて細胞を処理したところ、細胞表面上でも $\alpha 3$ と CD151 が解離することが確認され、ラミニンへの細胞接着活性が減少した。RNA 干渉で CD151 の発現をノックダウンさせた細胞でも、ラミニンへの接着活性が減少した。これから、CD151 はインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ のリガンド結合活性を増強させていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

申請者は、基底膜の主要な接着分子であるラミニンとその細胞側受容体であるインテグリンの間の分子間相互作用の特異性および結合親和性を 5 種類のラミニン結合性インテグリンすべてについて網羅的かつ定量的に解析し、ラミニンとインテグリン間の相互作用の特異性と重複性の実態を明らかにした。また、ラミニン結合性インテグリンの一つである $\alpha 3 \beta 1$ のラミニン結合活性がテトラスパニン CD151 との複合体形成により制御されていることを明らかにし、これまで不明であったインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ と CD151 との複合体形成の生理的意義の解明に大きく貢献した。これらの業績は、インテグリンを介する基底膜への細胞接着の分子機構の理解に新たな視点を提供するものとして高く評価でき、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。