



Title	Studies on the Mechanism of the Laminin-Integrin Interaction
Author(s)	谿口, 征雅
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57994
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	たに 裕 口 征 雅
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 5 8 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 22 年 3 月 23 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 Mechanism of the Laminin-Integrin Interaction (ラミニン-インテグリン間の結合機構の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 関 口 清 俊 (副査) 教 授 高 木 淳 一 教 授 吉 川 和 明

論 文 内 容 の 要 旨

【背景と目的】

基底膜の中核を担う分子であるラミニンは α 鎖、 β 鎖、 γ 鎖からなるヘテロ 3 量体分子である。哺乳動物では、5 種類の α 鎖・3 種類の β 鎖・3 種類の γ 鎖から、少なくとも 12 種類のアイソフォームが形成される(図 1)。ラミニンは細胞膜受容体であるインテグリンとの相互作用を通じて、生存・増殖・分化などのシグナルを細胞内に入力する。ラミニンのインテグリン結合部位は α 鎖球状ドメイン(図 1)に存在していると考えられているが、 α 鎖単体ではインテグリン結合活性が失われている。このことは、 β 鎖と γ 鎖もラミニン-インテグリン間の結合に関与している可能性を示唆している。実際に、ラミニン γ 鎖 C 末端部のグルタミン酸残基がインテグリンとの結合に重要な役割を果たしている。

本研究の目的は、ラミニン-インテグリン間の相互作用におけるラミニン β 鎖の機能を明らかにすることである。そのために、 $\beta 1$ 型・ $\beta 2$ 型ラミニンのインテグリンに対する結合能を比較・検討した。

【結果と考察】

インテグリン結合活性が非常に高いラミニン $\alpha 5$ 鎖を含む $\alpha 5 \beta 1 \gamma 1$ と $\alpha 5 \beta 2 \gamma 1$ を $\beta 1$ 型・ $\beta 2$ 型ラミニンのモデルとして選択した。そして、これらラミニンに対する主要な受容体である $\alpha 3 \beta 1$ ・ $\alpha 6 \beta 1$ ・ $\alpha 6 \beta 4$ ・ $\alpha 7 \beta 1$ インテグリンの結合活性を固相結合アッセイにより評価した。 $\alpha 7$ 鎖には、 $\alpha 7 X1$ と $\alpha 7 X2$ の 2 種類が存在する。 $X1$ ・ $X2$ 領域は、ラミニンに対する結合活性に強く関与していることが知られている。

$\alpha 3 \beta 1$ と $X2$ 型 $\alpha 7 \beta 1$ はラミニン $\alpha 5 \beta 1 \gamma 1$ より $\alpha 5 \beta 2 \gamma 1$ に対して高い結合親和性を示した。一方、 $\alpha 6 \beta 1$ ・ $\alpha 6 \beta 4$ ・ $X1$ 型 $\alpha 7 \beta 1$ はラミニン $\alpha 5 \beta 1 \gamma 1$ ・ $\alpha 5 \beta 2 \gamma 1$ に対して同程度の結合親和性を示した。ラミニン α 鎖の組成が異なる他のアイソフォーム($\alpha 1$ 型・ $\alpha 2$ 型)を用いても、 $X2$ 型 $\alpha 7 \beta 1$ は、 $\beta 2$ 型ラミニンに対して高い結合親和性を示した。これらの結果から、 $\alpha 3 \beta 1$ と $X2$ 型 $\alpha 7 \beta 1$ のみが、 $\beta 2$ 型ラミニンに対して高い結合活性を示すことが明らかとなった。興味深いことに、 $\alpha 3$ 鎖には $X2$ 様領域が、また、 $\alpha 6$ 鎖に

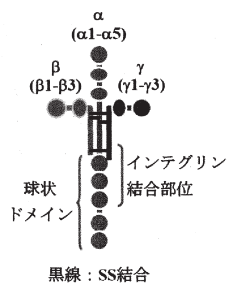


図 1. ラミニンの構造

は $X1$ 領域が存在する。従って、 $\alpha 3 \beta 1$ と $\alpha 6 \beta 1$ は $X2$ 型と $X1$ 型に分類される。このことから、 $X2$ 型インテグリンが $\beta 2$ 型ラミニンと $\beta 1$ 型ラミニンを識別すると予想した。実際に、生体では発現していない $X2$ 型の $\alpha 6 \beta 1$ は $\beta 2$ 型ラミニンに対して高い結合活性を示した。

インテグリン結合活性に関与するラミニン β 鎖の原因領域を決定するため、 $\beta 1$ 鎖と $\beta 2$ 鎖の間でスワップ変異体を作製し、 $\alpha 3 \beta 1$ に対する結合活性を比較した。その結果、 β 鎖 C 末端部 22 アミノ酸残基がインテグリンとの結合親和性を調節していることが明らかとなった。

以上の結果から、ラミニンのインテグリン結合機構における β 鎖の機能が2つ考えられる(図 2)。先行研究から、 β 鎖 C 末端部は α 鎖球状ドメインの近傍に位置すると考えられる。従って、 β 鎖 C 末端部は球状ドメインと相互作用することで、ラミニンの $X2$ 型インテグリンに対する結合親和性を調節している可能性が考えられる(図 2、モデル 1)。また、 β 鎖 C 末端部がインテグリンの $X2$ 領域と直接相互作用することで、 $X2$ 型インテグリンに対する結合親和性を調節している可能性も否定できない(図 2、モデル 2)。

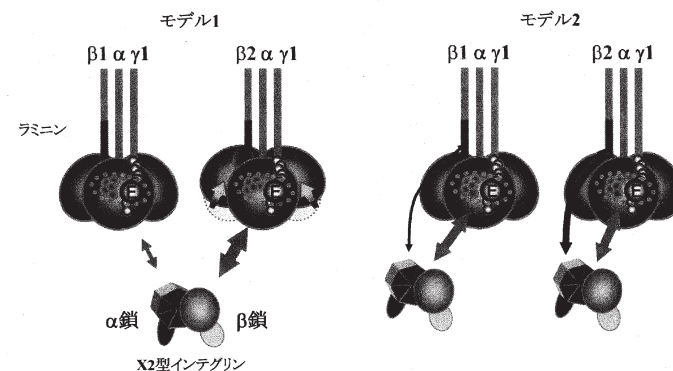


図 2. 本研究から予想されるラミニン β 鎖の機能—淡緑色の球は予想されるラミニン α 鎖のインテグリン結合部位を、淡緑色の破線囲いはインテグリン結合部位をそれぞれ表している。モデル 1: ラミニン β 鎖 C 末端部がラミニンのインテグリン結合部位の立体配置を変化させる。ラミニン $\beta 2$ 鎖 C 末端部(赤色)は、ラミニン α 鎖球状ドメインの立体配置を変化させる。この変化を認識するのは $X2$ 型インテグリンである。両端矢印(オレンジ色)の幅は、ラミニン-インテグリン間の結合親和性の大きさを反映させている。モデル 2: ラミニン β 鎖 C 末端は $X2$ 型インテグリンと直接結合する。ラミニン β 鎖 C 末端部が、インテグリン α 鎖に直接認識される。この認識において、 $X2$ 型インテグリンはラミニン $\beta 2$ 鎖 C 末端(赤色)の方が $\beta 1$ 鎖 C 末端(青色)より高い親和性を有している(緑色の両端矢印)。一方、ラミニン α 鎖と γ 鎖に対するインテグリンの結合親和性(オレンジ色の両端矢印)は変わらない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

基底膜の主要構成分子であるラミニンは、細胞表面のインテグリン受容体との結合を介して、細胞の生存を維持し、増殖と分化の制御に関わっている。ラミニンは α 鎖・ β 鎖・ γ 鎖からなるヘテロ 3 量体分子であり、これまでの研究から α 鎖と γ 鎖の C 末端領域がインテグリンとの結合に関与することが知られている。しかし、 β 鎖がインテグリンとの結合にどのような役割を果たしているかはこれまで不明であった。谿口征雅君は、ラミニン β 鎖に $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ の3種類があり、その中でも $\beta 1$ と $\beta 2$ 鎖がどの α 鎖ともヘテロ 3 量体を形成することに着目し、 $\beta 1$ 鎖を含むラミニンと $\beta 2$ 鎖を

含むラミニンのインテグリン結合活性を精製インテグリン標品を用いて詳細に比較・検討した。得られた結果は以下の3点に要約される。1) $\alpha 3 \beta 1$ とX2型 $\alpha 7 \beta 1$ インテグリンはラミニン $\alpha 5 \beta 1 \gamma 1$ ($\beta 2$ 型ラミニン) より $\alpha 5 \beta 2 \gamma 1$ ($\beta 1$ 型ラミニン) に対して高い結合親和性を示す、2) $\alpha 6 \beta 1$ 、 $\alpha 6 \beta 4$ 、X1型 $\alpha 7 \beta 1$ インテグリンはラミニン $\alpha 5 \beta 1 \gamma 1$ と $\alpha 5 \beta 2 \gamma 1$ に対して同程度の結合親和性を示す、3) α 鎖の組成が異なるラミニンアイソフォームを用いても、X2型 $\alpha 7 \beta 1$ インテグリンは、 $\beta 2$ 型ラミニンに対して高い結合親和性を示す。 $\alpha 3 \beta 1$ と $\alpha 6 \beta 1$ インテグリンは、それぞれX2型とX1型インテグリンに分類されることから、これらの結果はX2型インテグリンが $\beta 2$ 型ラミニンと $\beta 1$ 型ラミニンを識別していることを強く示唆している。谿口君はこの作業仮説を証明するため、生体では発現していないX2型 $\alpha 6 \beta 1$ を人工的に作製し、これが予想どおり $\beta 2$ 型ラミニンに対して高い結合活性を持つことを明らかにした。さらにインテグリン結合活性に関与するラミニン β 鎖の原因領域を決定するため、 $\beta 1$ 鎖と $\beta 2$ 鎖の間で多数のスワップ変異体を作製し、 β 鎖C末端部22アミノ酸残基がインテグリンとの結合親和性を調節していることを明らかにした。

これら結果は、ラミニン β 鎖がインテグリンとの結合に関与すること、X2型インテグリンだけが β 鎖の違いを識別できること、そして β 鎖のC末端領域がこの識別に関与することを明確に示しており、ラミニン-インテグリン間の分子間相互作用の解明に重要な手がかりを与えるものである。また、ラミニン $\beta 2$ 鎖遺伝子の変異を原因とする疾患の病因解明につながる糸口となることが期待される。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。