



| | |
|--------------|---|
| 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、 〈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。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|------------|--|
| 氏名 | たに ぐち ゆき まさ 谿 口 征 雅 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(理学) |
| 学位記番号 | 第 23589 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、β1型・β2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α5鎖を含むα5β1γ1とα5β2γ1をβ1型・β2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α3β1・α6β1・α6β4・α7β1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。α7鎖には、α7X1とα7X2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。

α3β1とX2型α7β1はラミニンα5β1γ1よりα5β2γ1に対して高い結合親和性を示した。一方、α6β1・α6β4・X1型α7β1はラミニンα5β1γ1・α5β2γ1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(α1型・α2型)を用いても、X2型α7β1は、β2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、α3β1とX2型α7β1のみが、β2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、α3鎖にはX2鎖領域が、また、α6鎖に

はX1領域が存在する。従って、α3β1とα6β1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β2型ラミニンとβ1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α6β1はβ2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、β1鎖とβ2鎖の間でスワップ変異体を作製し、α3β1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)。

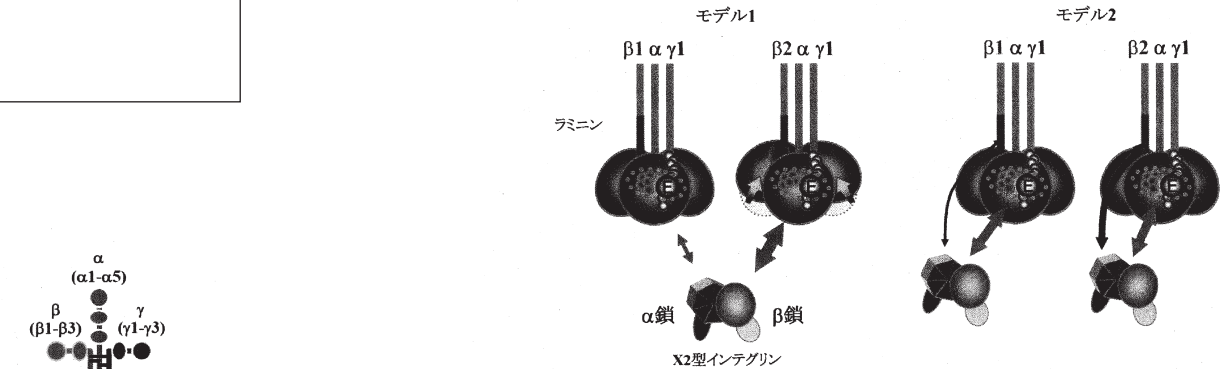


図1. ラミニンの構造

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β2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β2鎖C末端(赤色)の方がβ1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してい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β1、β2、β3の3種類があり、その中でもβ1とβ2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、β1鎖を含むラミニンとβ2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。