The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The unique prodomain of T-cadherin plays a key role in adiponectin binding with the essential extracellular cadherin repeats 1 and 2
Author(s)	福田, 士郎
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67115
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　福　田　士　郎

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	下村伊一郎
	副　査	大阪大学教授	高島武二
	副　査	大阪大学教授	長澤丘司

論文審査の結果の要旨

本研究は、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンが、その結合相手であるT-カドヘリンのどのドメインに結合するか検討したものである。T-カドヘリンは心臓や血管に発現し、アディポネクチンの心血管への集積やその保護効果に重要であることはこれまでに知られていたが、その結合の詳細は不明であった。本研究では免疫グロブリンFcとの融合タンパク質を用いて、アディポネクチンとT-カドヘリンの結合定数が1nMと非常に強いことを示した。T-カドヘリンは先頭からプロドメイン、細胞外ドメイン1～5、そしてGPIアンカードメインからなるが、この中で細胞外ドメイン1および2がアディポネクチンとの結合に重要であること、さらにT-カドヘリンに特徴的なプロドメインもアディポネクチンとの結合性に関与することを示した。本研究はアディポネクチンとT-カドヘリンの結合を詳細に検討した初めての報告であり、これらの分子が細胞・組織にもたらす効果を理解するうえで重要な知見であると考えられる。従って、学位の授与に値するものと認める。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	福田　士郎
論文題名 Title	The unique prodomain of T-cadherin plays a key role in adiponectin binding with the essential extracellular cadherin repeats 1 and 2 (アディポネクチンとT-カドヘリン細胞外ドメイン1および2との結合および、その結合におけるT-カドヘリンに特徴的なプロドメインの重要性)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

脂肪細胞特異的分泌因子アディポネクチン(APN)は、血中に4～20μg/mL(約40～200nM)という、ホルモンやサイトカインと比べて非常に高い濃度で存在する。APNは三量体、六量体、多量体構造をとり、特に多量体APN低値がインスリン抵抗性や冠動脈疾患と関連する。また、APNは心血管・骨格筋といったAPN非産生臓器に集積し、この異所性集積はGPIアンカー型膜タンパク質であるT-カドヘリン(T-cad)の欠失によって著減する。T-cad遺伝子周辺のSNPと血中APN値や冠動脈疾患などが相関することが報告されている。T-cadは発現クローニングによって同定されたAPN結合細胞表面タンパク質であるが、その結合の詳細はこれまで明らかにされていない。そこで、APNとT-cadの結合の詳細について明らかにするため、以下の検討を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

T-cadの細胞外ドメイン及び各細胞外ドメイン失変異体をヒトIgGFc領域融合タンパク(T-cad Fc)として調製し、APNとの結合に重要なドメイン構成について検討した。T-cad Fcはマウス血清中および哺乳動物細胞発現リコンビナントAPNのうち、主に六量体以上の画分を特異的に結合した。この結合には細胞膜成分やAPN以外の血清由来因子を必要としなかった。スキャッチャードプロットを用いた平衡状態近似解析および表面プラズモン共鳴分析法を用いた反応速度解析の結果、APNとT-cadの結合定数は1.0nMと算出された。EC1またはEC2の欠失変異はAPNとの結合を著しく減弱し、プロドメインの欠失変異もAPNとの結合に部分的に影響した。

T-cadは他のカドヘリンと異なり、プロドメインをもつ130kDa体とプロセシングを受けた100kDa体が同時に細胞表面に発現している。血管内皮モデル細胞であるF2細胞に対し、PCSK(Prohormone convertase)ファミリーに対する阻害剤で処理すると、細胞のT-cadの130kDa体は増加し、100kDa体は減少した。この時T-cadの総量に変化はなかったにも関わらず、細胞表面に結合するAPNの量は増加した。

〔総　括(Conclusion)〕

APNとの結合にはT-cadのEC1及びEC2が重要であり、T-cadに特有のプロドメインもAPNとの親和性に寄与していることを明らかにした。APNとT-cadとの結合親和性(1.0nM)は、報告される他のカドヘリン分子 (E-カドヘリンやN-カドヘリン)のホモ結合(20-200μM程度)より高く、インスリン-インスリン受容体(0.1～1.0nM程度)や成長ホルモン-受容体(0.3-0.4nM)と同程度であった。APNの血中濃度はこれらのホルモン・サイトカイン類よりはるかに高く、またAPNとT-cadの結合定数よりも高い状態であることを考慮すると、この結合は一般的なシグナル伝達に関与するリガンド-受容体の関係とは異なる生理的意義を持つことが示唆された。

さらに、プロドメインの欠失変異がAPNとの結合を部分的に減弱したこと、プロドメインのあるT-cad 130kDa体が無い100kDa体より多くAPNを結合したことから、このプロドメインのプロセシング制御がAPNとの結合に寄与する可能性があると考えられた。