The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Sphingomyelin metabolism underlies Ras excitability for efficient cell migration and chemotaxis
Author(s)	Shin, Da Young
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/93026
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　　名　（　　　　　　申　多英　　　　　　）	
論文題名	Sphingomyelin metabolism underlies Ras excitability for efficient cell migration and chemotaxis （細胞運動におけるRas興奮系のスフィンゴミエリン代謝系による調節機構)

論文内容の要旨

In eukaryotic motile cells, the active Ras (Ras-GTP)-enriched domain is generated in an asymmetric manner on the cell membrane through the excitable dynamics of an intracellular signaling network. This asymmetric Ras signaling regulates pseudopod formation for both spontaneous random migration and chemoattractant-induced directional migration. While membrane lipids, such as sphingomyelin and phosphatidylserine, contribute to Ras signaling in various cell types, whether they are involved in the Ras excitability for cell motility is unknown. Here I report that functional Ras excitability requires the normal metabolism of sphingomyelin for efficient cell motility and chemotaxis. The pharmacological blockade of sphingomyelin metabolism by an acid-sphingomyelinase inhibitor, fendiline, and other inhibitors suppressed the excitable generation of the stable Ras-GTP-enriched domain. The suppressed excitability failed to invoke enough basal motility to achieve directed migration under shallow chemoattractant gradients. The fendiline-induced defects in Ras excitability, motility and stimulation-elicited directionality were due to an accumulation of sphingomyelin on the membrane, which could be recovered by exogenous sphingomyelinase or phosphatidylserine without changing the expression of Ras. These results indicate a novel regulatory mechanism of the excitable system by membrane lipids, in which sphingomyelin metabolism provides a membrane environment to ensure Ras excitation for efficient cellular motility and chemotaxis.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　Shin Da Young　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　　　　　　教授	上田 昌宏
	副 査　　　　　　教授	松野 健治
	副 査　招へい教授（東京慈恵会医科大学）	橘木 修志

論文審査の結果の要旨

真核生物の運動性の高い細胞では、細胞内シグナル伝達ネットワークの自発的活性化により、活性型 Ras（Ras-GTP）が細胞膜上の局所領域に濃縮したドメイン構造が生成される。Ras-GTP 濃縮ドメインが細胞の前方となるシグナルとして働き、細胞が運動する。こうした自発的な前後極性の形成は、下等な真核生物の細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* からヒト白血球に至るまで進化的に保存されており、共通した分子メカニズムが明らかになってきた。最近の研究では、Ras-GTP 濃縮ドメインの生成が興奮系（excitable system）の特徴を示すことがわかっており、細胞性粘菌は興奮系による自発的な前後極性形成の仕組みを解明するためのモデル生物として研究が進んでいる。興奮系の反応ネットワークは、細胞膜上で反応を引き起こすことから、細胞膜脂質とその表面電荷が興奮系を制御する因子として注目されているが、詳細な検討は進められてこなかった。

粘菌細胞の興奮系を構成する RasG は哺乳類細胞の K-Ras と一次構造が類似しているが、哺乳類細胞においては K-Ras による細胞内シグナル伝達に細胞膜脂質のスフィンゴミエリン（SM）の正常な代謝が必要とされている。例えば、阻害剤等を用いて細胞膜の SM の量を変化させると、細胞膜のホスファチジルセリン（PS）の量が減少し、K-Ras の活性に影響することが知られている。PS の負電荷は K-Ras の C 末端アンカー配列を介した細胞膜との相互作用に必須とされ、こうした静電相互作用によって K-Ras のナノクラスタが形成され、K-Ras の濃縮によりシグナル伝達効率が高まる可能性が示唆されている。こうした知見の蓄積から K-Ras のシグナル伝達における SM 代謝の関与が明らかになってきたが、Ras の興奮性、細胞運動、走化性応答における SM 代謝系の役割については明らかになっていなかった。

そこで、本博士論文の申請者は、SM の代謝を阻害する様々な化合物を用いることで、Ras の興奮性、細胞運動、走化性応答において SM 代謝系の正常な働きが必要であることを明らかにした。例えば、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤であるフェンジリン処理により、Ras-GTP 濃縮ドメインの生成が阻害され、細胞運動や走化性が阻害されることを示した。Ras の自発的な興奮が抑制されることで、誘引物質濃度の低い領域での走化性応答が阻害されることも発見しており、自発的な興奮現象の生理的意義も明らかにしている。また、超解像顕微鏡を用いて活性型 Ras の細胞膜上での空間分布をナノメータースケールで観察することにより、200 nm の微小空間において 10～20 分子の Ras ナノクラスタが興奮系の活性と相関して形成されるという新しい現象も発見した。Ras のナノクラスタ形成は、興奮系におけるポジティブフィードバックの仕組みを示唆するものであり興味深い発見となっている。

本論文の成果によって、細胞膜脂質のスフィンゴミエリンの正常な代謝が Ras の機能発現に必要となる細胞膜環境を提供し、効率的な細胞運動と走化性応答が実現されることが明らかになった。これは、細胞膜脂質による興奮系の新しい制御メカニズムを示している。これらの成果は、興奮系によって制御される他の生物種の細胞運動や走化性応答の制御機構の理解に大きく貢献し、細胞生物学研究に寄与すると期待される。

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。