

京都大学	博士 (医科学)	氏 名	山添 紗有美
論文題目	A Dumbbell-Shaped Small Molecule that Promotes Cell Adhesion and Growth (細胞の接着と増殖を促進するダンベル型小分子化合物)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>細胞の表現系の変化を指標として化合物ライブラリーのスクリーニングを行ったところ、ヒト培養細胞の接着と増殖を促進する小分子化合物を発見した。化学的および生物学的試験から、アドヘサミンと名付けたこの化合物は、細胞表面のヘパラン硫酸に結合して、細胞の接着と増殖を促すことが示唆された。本研究ではアドヘサミンの発見とその標的分子の同定を行い、さらに細胞工学における基礎研究用試薬としての応用可能性について検討した。</p> <p><b>1. アドヘサミンの発見</b></p> <p>数万個の化合物ライブラリーを、ヒト培養細胞を用いた表現系スクリーニングに供したところ、細胞の培養プレート底面への接着を強化する化合物を発見した。この化合物は付着細胞のみならず、浮遊細胞をも、培養プレート底面へと接着させる働きをもつことが分かった。</p> <p>アドヘサミンによって接着した細胞では、接着斑が迅速に形成され、細胞の増殖速度が亢進する。このような接着様式はフィブロネクチンの誘導する細胞接着に酷似している。こうした観察結果から、アドヘサミンはフィブロネクチンのような細胞外マトリックスと同様に、生理的な細胞接着を誘導していることが示唆された。</p> <p><b>2. アドヘサミンの分子標的</b></p> <p>アドヘサミンがどのような機構で細胞接着を促進しているかを調べるために、構造活性相関研究を行い、蛍光プローブ体を合成した。蛍光顕微鏡観察からアドヘサミンの蛍光プローブ体は、細胞表面に局在することが分かった。この結果からアドヘサミンの標的は細胞表面にあることが示唆された。さらに競合阻害試験および等温滴定熱量測定を行い、アドヘサミンは細胞表面の特定のグリコサミノグリカンに結合することが示唆された。</p> <p>アドヘサミンの誘導する細胞接着を仲介しているグリコサミノグリカンを調べるために、細胞表面のグリコサミノグリカンを酵素的に除去した。その結果、ヘパラン硫酸を除去した場合のみ、アドヘサミンによる細胞接着促進活性が損なわれることが分かった。アドヘサミンは細胞表面のヘパラン硫酸と相互作用することによって、細胞接着促進活性を発現している可能性が示唆された。</p> <p>さらにアドヘサミンによって、接着斑キナーゼ (FAK) と細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) のリン酸化が起こることが分かった。FAK や ERK の活性化は細胞の接着や増殖に重要な働きを演じていることが知られており、アドヘサミンの細胞増殖促進活性や細胞接着促進活性とも関わっている可能性がある。</p> <p><b>3. アドヘサミンの細胞工学への利用</b></p> <p>アドヘサミンの細胞接着促進活性を既存の培養プレートコーティング剤と比較したところ、アドヘサミンは培地に添加するだけで、現在市販されているコーティング剤よりも効率的に、細胞を培養基質に接着させることが分かった。さらにアドヘサミンを利用することで、血球細胞へのマイクロインジェクションも可能となることが分かった。アドヘサミンは培地に添加するだけで細胞のプレートへ</p>			

の接着を促進するはじめての小分子有機化合物であり、細胞接着という複雑な現象を解き明かす有用なツールとして、また細胞生物学の基礎研究用試薬として利用できる可能性を秘めている。

(論文審査の結果の要旨)

学位申請者は、化合物ライブラリーのスクリーニングによって細胞接着を促進する化合物を見出し、アドヘサミンと名付けた。このユニークな化合物は、細胞表面のヘパラン硫酸に結合することで、細胞の接着と増殖を促進していることが、細胞生物学、分子生物学、および化学的実験データによって分かった。

アドヘサミンを培地に添加すると、培養細胞を培養プレート底面へと接着させることができる。このような生物活性をもつ合成小分子化合物は、これまで報告されていない。アドヘサミンが誘導する細胞接着は、細胞外マトリックス構成タンパク質であるフィブロネクチンと似た生理的なものであることが分かった。この細胞接着促進活性は、接着斑キナーゼ (FAK) や細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) のリン酸化を伴うもので、ポリリジンなどの合成ポリマーによる非生理的な細胞接着とは全く異なる。

以上の研究により、合成小分子化合物によっても、生体高分子の一つである細胞外マトリックスを模倣できることが示された。アドヘサミンの発見は、基礎研究用試薬や分子プローブとしての新規素材を提供し、生化学および細胞生物学に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医科学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 12 月 15 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降