

|   |   |    |      |
|---|---|----|------|
| 京都大学  | 博士（医学）  | 氏名 | 矢野智樹 |
| 論文題目  | Tara up-regulates E-cadherin transcription by binding to the Trio RhoGEF and inhibiting Rac signaling<br>(Trio RhoGEF 結合タンパク質としての Tara は Rac signal を阻害する事により E-cadherin の転写を上昇させる) |    |      |
| <p>(論文内容の要旨)</p> <p>生体内において上皮細胞シートは E-カドヘリンの接着により形成され、その動態は分化／発生やガン化の過程において時空間的に制御されている。しかしながらその動態を制御するシグナル経路については不明な点が多い。本研究では E-カドヘリンの発現を制御する新しいシグナル経路を新たに見いだした。その経路によりカドヘリン6を発現する MDCK 細胞において、カドヘリンスイッチが誘発され上皮細胞シートの動態が変化することが明らかとなった。</p> <p>肝臓毛細胆管画分より単離した Adhereins Junction (AJ) 画分の2次元泳動スポットを MASS 解析し、E-カドヘリンの発現を制御する新規因子 Tara (Trio-associated repeat on actin)を見出した。HA tag-Tara を MDCK 細胞に強制発現した結果、AJ に濃縮する事が明らかとなった。一方、抗 Tara 抗体を作製しマウス組織および MDCK 細胞を用いて免疫染色を行った結果、AJ に局在する事が確かめられた。以上より、Tara は新規の AJ 構成タンパク質と言える。Tara の機能解析を行う為に RNAi 法を用いて MDCK 細胞の Tara の発現を押さえた(Tara-KD)。その結果 E-カドヘリンの発現が mRNA レベルより抑制されることが確認されたが、上皮間葉転換は起こっていなかった。しかしながらこのカドヘリン6が E-カドヘリンに代わり発現の上昇するカドヘリンスイッチが誘発されていた。このように Tara は上皮細胞シートを維持したまま AJ におけるカドヘリンの発現様式を変化させる因子である事が示唆された。Tara は Rho GEF である Trio の RhoG/Rac1 GEF ドメインに結合するタンパク質であり、Tara-KD MDCK 細胞において Rac1 の活性が control 細胞よりも上昇していることが明らかとなった。Tara-KD により、Rac1 の下流で p38 のリン酸化の上昇が認められた。この p38 のリン酸化が E-カドヘリンのレプレッサーである Tbx3 のリン酸化を促し E-カドヘリンの発現を転写制御する事が明らかとなった。Tara-KD 細胞では E-カドヘリンからカドヘリン6へと細胞接着分子が発現変化する事により、上皮細胞に固有な actin の circumferential ring の形状が乱れる事が見いだされた。さらにゲル内3次元培養では、通常の球状 cyst 構造が、Tara-KD 細胞では大幅に歪む事が明らかとなった。Tara が KD されることで Circumferential ring の actin 束が細くなり、actin bundling が弱くなる為であることが示唆された。</p> <p>新規 AJ 構成タンパク質 Tara は Trio/Rac/p38/Tbx3 経路により E-カドヘリンの発現を制御し、上皮細胞シート構築を変化させる事が明らかとなった。これは AJ 発のシグナルにより E-カドヘリンの転写が制御されるはじめての事例であると考えられるが、その事により AJ が上皮細胞シートの動態を制御する事を示すことができた。このような E-カドヘリンの転写制御シグナルについて更に詳しく解析を進めていく事で、生体の分化／発生過程やガン化のメカニズムについて理解が深まるものと考えられる。</p> |   |    |      |

(論文審査の結果の要旨)

生体内において上皮細胞シートは細胞間接着により形成され、その動態は分化／発生やガン化の過程において時空間的に制御されている。しかしながら、その動態を制御するシグナル経路については不明な点が多い。ここでは、肝臓毛細胆管画分より単離した Adherens Junction (AJ) 画分の2次元泳動スポットを MASS 解析し、E-カドヘリンの発現を制御する新規 AJ 因子 Tara を見出した。Tara は TrioRhoGEF に結合する事により Rac1 を抑制する事が知られている。Tara の発現を押さえた (Tara-KD)結果、E-カドヘリンの発現が mRNA レベルより抑制され、この時カドヘリン6のタンパク質レベルでの発現が上昇していた。また、Tara-KD MDCK 細胞において Rac1 の活性が control 細胞よりも上昇していることが明らかとなった。Tara-KD により、Rac1 の下流で p38 のリン酸化の上昇が認められ、この p38 のリン酸化が Tbx3 のリン酸化を促し E-カドヘリンの発現を転写制御する事が明らかとなった。さらに、Tara-KD 細胞ではカドヘリンの発現パターンが変化する事により、上皮細胞に固有な actin の circumferential ring の形状が乱れ、加えて、3次元培養では、通常の球状 cyst 構造が、Tara-KD 細胞では大幅に歪む形状になった。以上の事より新規 AJ 構成タンパク質 Tara は Trio を介した Rac1 活性を抑制する事により、E-カドヘリンの転写を抑制する事がわかった。このような E-カドヘリンの転写制御シグナルについて更に詳しく解析を進めていく事で、生体の分化／発生過程やガン化のメカニズムについて理解が深まるものと考えられる。

以上の研究は細胞間接着機構の解明に貢献し生体の分化・発生・癌化のメカニズム解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）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23年 5月25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