

氏 名	かめ たに よし こ 亀 谷 祥 子
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 93 号
学位授与の日付	平 成 19 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	細胞接着面におけるカドヘリンフロー

論文調査委員	(主 査) 教 授 竹 市 雅 俊	教 授 上 村 匡	教 授 佐 邊 壽 孝
--------	----------------------	-----------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

細胞間接着は組織の強度維持に必要不可欠である。そのため、細胞間接着を静的なものとしてとらえている人も多いかもしれない。しかし、実際には細胞間接着はダイナミックに変化する。発生の過程や傷の治癒時などでは、細胞は接着を維持したまま細胞群として移動することもあるし、接着相手を次々と変えたりしながら形態形成運動を行ったりする様子も観察されている。このような過程では、細胞間接着はダイナミックに制御されているはずである。しかし、カドヘリンの動態に関する研究はまだ少ない。

申請者はカドヘリンの動態について研究するため、EGFP 融合型カドヘリン分子を、カドヘリンを発現していない A431D 細胞に導入し、その動態を DeltaVision 顕微鏡により観察した。その結果、細胞接着面でのカドヘリン分子群の方向性を持った移動を発見した。このような極性を持ったカドヘリン分子の動きはこれまで全く報告されていない。そこで申請者は、このカドヘリン分子の極性を持った動きを「カドヘリンフロー」と名づけ、そのメカニズムと生理的意義についての研究を行った。

まず、このカドヘリンフローに参加しているカドヘリンについて調べたところ、細胞内でカテニン分子と結合しており、細胞外では隣り合う細胞の発現するカドヘリンと trans に結合していることがわかった。次に、様々な変異分子を用いたドメイン解析を行ったところ、このカドヘリンフローにはカドヘリンの β -catenin 結合領域が必要であり、この β -catenin との結合はカドヘリンと α -catenin を結びつけるために必要であることがわかった。さらに α -catenin の一部を欠損させた分子を用いて調べたところ、 α -catenin のカルボキシル末端がカドヘリンフローに必要であることがわかった。この α -catenin のカルボキシル末端は actin と結合することが知られている。そこでカドヘリンフローとアクチンとの関係を調べたところ、カドヘリンフローを示すカドヘリン分子群はアクチン繊維上に存在すること、アクチン重合阻害剤である cytochalasinD の添加によりカドヘリンフローが阻害されること、がわかった。神経成長円錐などではアクチンはアクチンフローと呼ばれる極性を持った移動を行うことが報告されている。そこでカドヘリンはアクチンフローにより運ばれるのではないかと推測し、アクチンフローとカドヘリンフローとの関わりを調べた。その結果として、細胞接着面にアクチンフローが観察されたこと、アクチンフローを阻害することが知られている ML-7などの薬剤でカドヘリンフローが阻害されること、がわかった。

カドヘリンフローは細胞の種類により、観察される細胞とされない細胞がある。しかし、通常カドヘリンフローが観察されない種類の細胞においても、傷治癒時など、細胞が接着を維持しながら移動していくような局面においてはカドヘリンフローが観察された。これらの結果から、細胞が接着を維持しながら移動する際には、細胞が接着相手の細胞を足場として移動していると考察している。

本研究により、これまで全く知られていなかったカドヘリンの動態が明らかとなり、さらに、その生理的意義を考える上において興味深い観察結果を提出している。

論文審査の結果の要旨

細胞間接着がダイナミックに変化する場合には、細胞間接着分子カドヘリンも動的に制御されているはずである。しかし、生きた細胞におけるカドヘリンの動態に関する知見は多くない。

申請者は生きた細胞でのカドヘリンの動態について研究するため、EGFP 融合型カドヘリン分子を、カドヘリンを発現していない A431D 細胞に導入し、その動態を DeltaVision 顕微鏡により観察した。その結果、細胞接着面でのカドヘリン分子群の方向性を持った移動を発見し、このカドヘリン分子の極性を持った動きを「カドヘリンフロー」と名づけた。このカドヘリンフローを示すカドヘリン分子は、その細胞内ドメインでカテニン分子と、細胞外ドメインでは隣り合う細胞が発現するカドヘリンと結合しながら移動していることをまず明らかにしている。

次に申請者は、変異カドヘリン分子を作製しその動態を観察した結果から、カドヘリンフローにはカドヘリンの β -カテニン結合領域が必要であることを見出した。そして、 β -カテニンはカドヘリンと α -カテニンとの結合を媒介するために必要であること、更に α -カテニンの VH3 ドメインがカドヘリンフローに必要であることを示した。VH3 ドメインはアクチン繊維との結合に関与することが知られているため、カドヘリンフローとアクチン繊維との関係を調べた。その結果、アクチン重合阻害剤によってカドヘリンフローが停止すること、カドヘリンクラスターがアクチン繊維上に観察されること、継時観察によりカドヘリンクラスターがアクチン繊維上を移動することなどから、カドヘリンクラスターがアクチン繊維により運ばれることを推論した。また、申請者は細胞接着面でのアクチンの動態を観察することにより、A431D 細胞では細胞接着面にアクチンフローが起きていることを示し、薬剤添加実験によりこのアクチンフローがカドヘリンフローの原動力であると結論づけている。

また申請者は細胞によってカドヘリンフローが観察されるものと観察されないものがあることを発見した。しかし、通常カドヘリンフローが観察されない種類の細胞においても、傷治癒時など、細胞が接着を維持しながら移動していくような局面においてはカドヘリンフローが観察された。そのような観察結果を根拠として、細胞が接着を維持しながら移動する際には、接着面でのカドヘリンフローが関与するのではないかと考察している。

これまで、生きた細胞におけるカドヘリンの動態はほとんど報告されておらず、本研究により初めて細胞接着部位でカドヘリンが方向性を持った移動を行うことが明らかとなった。更にこのカドヘリンフローは細胞移動の原動力となる可能性が示唆され、細胞間接着の制御と細胞移動との関係を知る上で非常に重要な研究であると言える。

以上の理由から本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値有るものと認めた。なお平成18年11月14日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認められた。