

氏 名	やま な のり かず 山 名 則 和
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3038 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 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	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Rho/mDia1 pathway regulates cell polarity and focal adhesion turnover in migrating cell through mobilizing APC and c-Src (Rho-mDia1 情報伝達経路による APC, c-Src を介した移動細胞の極性発現機構及び細胞接着斑再編機構の解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 大 森 治 紀

論 文 内 容 の 要 旨

細胞遊走は、器官形成、創傷治癒、炎症、癌転移など多くの生命現象の要である。細胞は遊走刺激に応じ、移動方向前後で異なった形態(極性)を獲得し、アクチンや微小管などの細胞骨格を再編して、細胞接着斑を回転させながら方向性をもった移動(遊走)を行う。遊走では様々な情報伝達経路が働くが、これまでの解析から、Rho ファミリーのなかで Cdc42 が細胞極性の発現に、Rac がアクチン網形成を介して細胞前縁での膜突出に働くことが明らかになっている。しかし、Rho の役割には不明な点が多い。本研究は、神経膠腫細胞株であるラット C6 グリオーマ細胞を用いて、Rho 情報伝達経路による細胞移動制御機構について詳細に検討した。

まず、ケモカイン SDF-1 α に対する遊走や in vitro の wound-healing assay を用いて細胞移動を検討したところ、C3 菌体外酵素で Rho を不活化した細胞では、移動の方向性と細胞体自体の移動の両方が障害されることが分かった。これらの現象は ROCK 阻害薬 Y-27632 処理では見られなかったことから、細胞運動において、Rho の下流で ROCK 以外の分子が関与していることが示唆された。そこで、Rho エフェクターの一つであり、アクチン重合に関わる分子である mDia1 に注目し、細胞の方向性を持った移動における mDia1 の役割について検討した。RNA 干渉法を用いて mDia1 を欠失した細胞では、方向性を持った細胞移動が障害された。このことから、神経膠腫細胞の移動には Rho-mDia1 情報伝達経路が関与していることが示唆された。

方向性を持った細胞移動には、アクチン骨格や微小管を介した細胞極性形成と接着斑 turnover が必要であると言われている。そこで、mDia1 が細胞移動に必要な極性形成を制御しているかについて検討したところ、mDia1 を抑制した細胞では、移動方向に向けた微小管の安定化が抑制されること、また細胞極性形成時に必要とされる細胞前縁における Rac 及び Cdc42 の活性化が抑制されること、さらには Apc (adenomatous polyposis coli) の微小管プラス端への集積が障害されることを見出した。

次に、接着斑 turnover に対する mDia1 の関与について検討したところ、細胞移動の際、mDia1 を欠失した細胞では細胞接着斑の turnover が著しく障害された。更なる解析から、接着斑 turnover の障害は p130Cas のリン酸化及び活性化 Src の細胞接着斑への集積が mDia1 の欠失で抑制されるためであることがわかった。

以上の結果より、mDia1 が移動細胞で、Cdc42 や Apc の前縁への集積を起こすことにより細胞極性の決定を、Src の接着斑の集積により接着斑の turnover を起こして細胞体の移動を促進していることが示唆された。本研究は、Rho-mDia1 経路が細胞移動で司令塔的な役割を果たしていることを明らかにしたものであり、今後、細胞移動の研究に大きな影響を与えるものと考えられる。これらの制御機構は、細胞運動・遊走の時空間的に著しく変化すると考えられ、さらに局所でのそれぞれの分子の活性化及び局在化の機構を検討することは今後の課題である。

論文審査の結果の要旨

低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーが、細胞遊走を制御しているとの報告があるが、その機構には依然不明な点が多い。本研究は、ラット C6 グリオーマ細胞株を用いて、Rho-mDia1 情報伝達経路による細胞移動制御機構についての検討である。

まず、RNA 干渉法を用いて遊走能を検討したところ、mDia1 を抑制した細胞では移動距離が短くなり細胞移動の方向性も失われた。

そこで、細胞移動に必要な極性形成に対する関与について検討したところ、mDia1 抑制細胞では、移動方向に向けた微小管の安定化が抑制されること、細胞前縁における Rac 及び Cdc42 の活性化が抑制されること、Apc の微小管プラス端への集積が障害されること、が明らかとなった。

さらに、接着斑再編に対する mDia1 の関与について検討したところ、細胞移動の際、mDia1 抑制細胞では細胞接着斑再編が著しく障害されていた。更なる解析から、接着斑再編の障害は p130Cas のリン酸化及び活性化 Src の細胞接着斑への集積が mDia1 の欠失で抑制されるためであることがわかった。

以上の結果より、mDia1 が、1) Cdc42 や Apc を前縁へ集積させることにより細胞極性の決定を行い、2) Src を接着斑へ集積させることにより接着斑再編を起こす、ことによって細胞移動を制御していることが示唆された。

以上の研究は、脳腫瘍の細胞移動機構の解明に貢献し、今後の脳腫瘍患者の治療戦略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18年11月21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。