

氏 名	かくがわ きよかず 角 川 清 和
学位の種類	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2725 号
学位授与の日付	平成 16 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	CD98による細胞接着の制御：CEA-CAM-1とPKC δ の関与について

論文調査委員 (主 査) 教 授 藤 吉 好 則 教 授 永 田 和 宏 教 授 森 和 俊

論 文 内 容 の 要 旨

我々の身体は多くの細胞が互いに接着することによって形作られている。これらの細胞がお互いに正しく連絡を取り合っ
て初めて1つの身体として機能できている。これが崩れると、ヒトは病気になる。その意味で、細胞の接着と情報の伝達制
御は重要な生物学的研究課題である。例えば、細胞膜上での多様な細胞接着や情報伝達は発癌やその転移などとも深く関わ
っている。CD98という膜蛋白質は、軽鎖と重鎖からなるヘテロ二量体膜タンパク質で、重鎖に対するモノクローナル抗体
は1部の癌細胞の増殖を強く抑制することがわかっている。マウス胚性癌細胞F9を抗CD98重鎖抗体である14.37と24時
間共培養するとEDTAでも抑制することができない強固な細胞凝集と増殖抑制が観察される。このような細胞凝集と増殖
抑制現象の分子メカニズムを解明することを目指して研究を進めた。

凝集細胞塊中での局在を共焦点レーザー顕微鏡で観察して、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子である
CEA-CAM-1 (carcino embryonic antigen related cell adhesion molecule: 癌胎児性抗原) と、CD98が細胞接着面に共局
在することを見出した。CD98重鎖を免疫沈降したところCEA-CAM-1との共沈降が観察され、またCD98重鎖抗体14.37
の刺激によってこの2分子の会合が強固になることを見いだした。CEA-CAM-1の関与をより明確にするためマウスプロ
B細胞株であるBaF3にCEA-CAM-1を遺伝子導入して、BaF3/C-CAM-1を作成した。BaF3/C-CAM-1は定常状態では
凝集を示さないが、CD98に対する抗体で処理すると強い細胞凝集が誘導された。この凝集はCEA-CAM-1のブロッキング
抗体で阻害されることが明らかになった。CD98刺激によるCEA-CAM-1活性化の機構を解明するために、低分子量G
タンパクであるRap1, Ras, MAPKであるERKの、CD98刺激 (CD98重鎖抗体14.37) による活性化を調べたが、その刺
激の有無で変化は見られなかった。次に様々な代謝阻害剤の影響を検討した結果、BaF3/C-CAM-1の凝集はPKC δ の阻害
剤であるロットレリンによって完全に抑制されることがわかった。さらにCD98の刺激によりPKC δ が細胞質から細胞間の
接着面に移動すること、この移動がロットレリンによって抑制されることも共焦点レーザー顕微鏡による観察で確認された。
このロットレリンはCD98刺激による、 β 2インテグリンであるLFA-1による接着誘導は全く阻害しないこと、逆にCD98
刺激によるLFA-1の活性化を阻害するPI3キナーゼ阻害剤は同刺激によるCEA-CAM-1の活性化には全く影響を与えない
ことから、CD98はインテグリン活性化とは異なるシグナル経路によってCEA-CAM-1の接着能を制御していることが示
された。以上の結果から、CD98はインテグリンやカドヘリンのみならず免疫グロブリンスーパーファミリーの接着分子で
あるCEA-CAM-1の活性化にも関与することを初めて示したものであり、CD98が細胞膜上で多様な細胞接着分子の機能的
統合にも重要な役割を呈していることが示唆された。CEA-CAM-1は様々な癌において発現が低下しており癌化や転移
にかかわっていると考えられているが、細胞増殖を調節しているCD98によっても制御されているという本研究での成果は
発癌と転移の問題を考える上で非常に興味深いものであり、CD98からCEA-CAM-1へいたるシグナル伝達経路の更なる
研究は新しい人為抑制の方法の開発においても重要な手がかりを与えることができることを示したものである。

論文審査の結果の要旨

白血球の活性化抗原として同定されたCD98は、軽鎖と重鎖からなるヘテロ二量体膜蛋白質で、軽鎖は12回膜貫通のトランスポーターと考えられている。重鎖は分子量85kDaの1回貫通型蛋白質である。この軽鎖に対するモノクローナル抗体は1部の癌細胞の増殖を強く抑制することがわかっている。それゆえ、CD98は大変注目された抗原であったにもかかわらず、その実体は長らく不明であった。1999年以降、このCD98の研究が爆発的になされた、多様なシグナル伝達に関わる多機能な蛋白質であることがわかりつつある。

申請者は、このCD98が、CEA-CAM-1 (carcino embryonic antigen related cell adhesion molecule: 癌胎児性抗原) と細胞接着面に共局在することを、共焦点レーザー顕微鏡を活用して、発見した。さらに、免疫沈降法によってCD98がCEA-CAM-1と共沈降することを観察し、CD98重鎖抗体14.37の刺激によってこの2分子の会合が強固になることを見いだした。マウスプロB細胞株であるBaF3にCEA-CAM-1を遺伝子導入して、BaF3/C-CAM-1を作成し、BaF3/C-CAM-1における強い細胞凝集が、CD98刺激に対する抗体刺激により、強い細胞凝集が誘導されることを発見した。さらに、この様な凝集はCEA-CAM-1のブロッキング抗体で阻害されることを明らかにした。申請者はさらに研究を進めて、CD98刺激によるCEA-CAM-1活性化の機構を解明するために、低分子量G蛋白質であるRap1, Ras, MAPKであるERKの、CD98刺激 (CD98重鎖抗体14.37) による活性化を調べたが、CD98が低分子量G蛋白質の経を通っていないことが示唆された。次に様々な代謝阻害剤の影響を検討した結果、BaF3/C-CAM-1の凝集はPKC δ の阻害剤であるロットレリンによって完全に抑制されることを発見した。さらにCD98の刺激によりPKC δ が細胞質から細胞間の接着面に移動すること、この移動がロットレリンによって抑制されることも共焦点レーザー顕微鏡による観察で確認した。このロットレリンはCD98刺激による、 β 2インテグリンであるLFA-1による接着誘導は全く阻害しないこと、逆にCD98刺激によるLFA-1の活性化を阻害するPI3キナーゼ阻害剤は同刺激によるCEA-CAM-1の活性化には全く影響を与えないことから、CD98はインテグリン活性化とは異なるシグナル経路によってCEA-CAM-1の接着能を制御していることをきれいに示した。以上の結果から、CD98はインテグリンやカドヘリンのみならず免疫グロブリンスーパーファミリーの接着分子であるCEA-CAM-1の活性化にも関与することを初めて示したものであり、CD98が細胞膜上で多様な細胞接着分子の機能的統合にも重要な役割を呈していることを示唆した。CEA-CAM-1は様々な癌において発現が低下しており癌化や転移にかかわっていると考えられているが、細胞増殖を調節しているCD98によっても制御されているという本研究での成果は発癌と転移の問題を考える上で非常に興味深いものであり、CD98からCEA-CAM-1へいたるシグナル伝達経路という新しい重要な研究方向を示したものである。

以上の審査結果を総合して、本論文が理学博士の学位取得に十分な内容を持つものと結論した。論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。