



TITLE:

Rho/mDia1 pathway regulates cell polarity and focal adhesion turnover in migrating cell through mobilizing APC and c-Src(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yamana, Norikazu

CITATION:

Yamana, Norikazu. Rho/mDia1 pathway regulates cell polarity and focal adhesion turnover in migrating cell through mobilizing APC and c-Src. 京都大学, 2007, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2007-03-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/135658>

RIGHT:

氏名	やまのりかず 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/mDial pathway regulates cell polarity and focal adhesion turnover in migrating cell through mobilizing APC and c-Src (Rho-mDial 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mDial1に注目し、細胞の方向性を持った移動におけるmDial1の役割について検討した。RNA干渉法を用いてmDial1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-mDial1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、mDial1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、mDial1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mDial1の関与について検討したところ、細胞移動の際、mDial1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mDial1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、mDial1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-mDial1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。