

Regulation of cytoskeletons by intracellular signals シグナルによる細胞骨格の動態の調節機構

プロジェクト・リーダー 貝 淵 弘 三

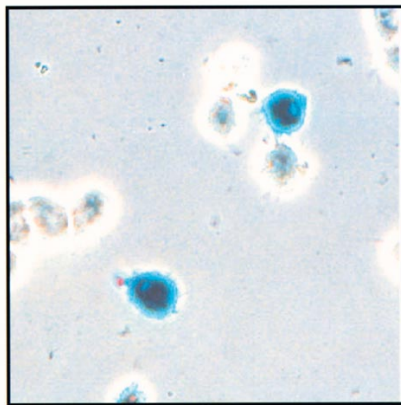
奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科 教授



研究対象「細胞外シグナル（LPA）に応答する培養神経細胞」



培養神経細胞が神経突起を伸展させている状態



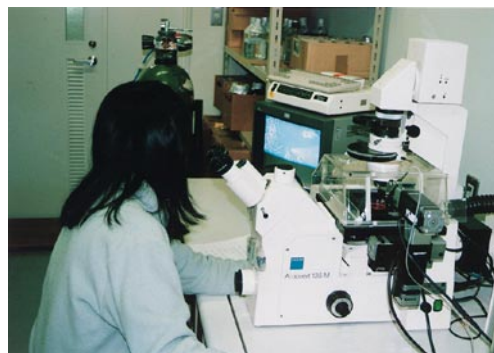
LPA を投与して神経突起が退縮した状態

培養神経細胞に LPA（リゾフォスファチジン酸）等の細胞外シグナルを投与すると、低分子量GTP結合蛋白質 Rho が活性化されて、その結果、細胞内の細胞骨格と細胞接着装置のダイナミックな再編成が起こり、神経突起が退縮する。このようなメカニズムは生体内の神経回路網の形成において、普遍的に働いていると思われる。

1. 研究の目的

細胞は種々の細胞増殖因子やホルモンなどの細胞外シグナルに応答して、細胞骨格や細胞接着装置をダイナミックに変化させて細胞形態、細胞運動、細胞質分裂、細胞の極性形成などの高次機能を遂行していると考えられているが、その制御機構は明らかになっていない。一方、低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho ファミリー（Rho, Cdc42, Rac）や Ras は細胞増殖因子などの細胞外シグナルの下流で主にアクチン系の細胞骨格の再構築や接着斑の形成を介して、細胞形態、細胞運動、細胞質分裂、平滑筋収縮などを制御している。本研究では、低分子量 GTP 結合タンパク質を中心にその活性制御機構や作用機構を解析することによって、細胞外シグナルによる細胞骨格と細胞接着装置の制御機構を明らかにすることを試みる。さらに、これらの研究成果を基に、血管平滑筋の異常収縮が原因のひとつと考えられている高血圧や狭心症、細胞接着異常が原因のひとつと考えられている癌細胞の浸潤、転移を制圧することを目的としている。

研究風景



培養細胞の核に遺伝子を注入し、目的とする蛋白質を過剰発現させる。その後、細胞の形態変化をタイムラプス顕微鏡で観察する。

2. 研究内容

1) Rhoを介する細胞骨格と接着の制御機構

LPA (リゾフォスファチジン酸) などの外界シグナルにより、GDP結合型の不活性型の Rho は、GTP 結合型の活性型へ変換される。活性型 Rho は標的蛋白質に作用して細胞骨格や細胞接着を制御すると考えられている。Rho の標的蛋白質は長い間不明であったが、私共は Rho の標的蛋白質として、Rho-キナーゼ、及びミオシンホスファターゼのミオシン結合サブユニット (MBS) プロテインキナーゼ N を同定している。更に Rho-キナーゼや MBS が、Rho の下流でミオシンを活性化することにより、平滑筋収縮やアクチンストレスファイバーや接着斑の形成、神経軸索の退縮、細胞質分裂を制御することも明らかにしている (図1)。また、ミオシン以外の Rho-キナーゼの基質蛋白質として、アデュシンやモエシンも同定しており、これらの基質蛋白質のリン酸化がそれぞれ細胞運動や微絨毛の形成を制御していることも明らかにしている。

2) Cdc42/Racを介する細胞骨格と接着の制御機構

Rho ファミリーには、Rho 以外にも Cdc42、Rac といった蛋白質も含まれている。私共は Cdc42/Rac の標的蛋白質として IQGAP1 を同定しており、IQGAP1 が上皮細胞の細胞間接着部位に濃縮していることを見出している。細胞間接着はカドヘリンとその裏打ち蛋白質である α カテニンと β カテニンが複合体を形成して維持されている。私共は IQGAP1 がカドヘリン・カテニン複合体と直接結合して、カドヘリン・カテニン複合体から α カテニンを解離させることにより、カドヘリンの機能を negative に制御することを明らかにしている。また、活性化された Cdc42 は IQGAP1 の阻害作用を抑制することにより、カドヘリン・カテニンを安定化して細胞間接着を positive に制御していると考えている (図2)。

3) Ras を介する細胞骨格と接着の制御機構

Ras は最初癌遺伝子として同定されており、Ras 遺伝子の突然変異による活性化が、大腸癌や膵臓癌の発生に重要な役割を果たしていることが知られている。Ras は種々の細胞増殖因子によって GDP 結合型の不活性型から、GTP 結合型の活性型へ変換される。活性型 Ras が標的蛋白質に作用して生理機能を遂行する。Ras の標的蛋白質としては、Raf-キナーゼがよく知られている。Ras は Raf-キナーゼの活性化を介して、種々の遺伝子の発現を促進し、その結果、細胞増殖を促進すると考えられている。Ras 遺伝子の突然変異による活性化が生ずると、Raf-キナーゼの恒常的な活性化が起こり、細胞が無限に増殖すると考えられている。しかし、Ras による細胞の形態変化、特に癌細胞の接着性の低下やそれに伴う浸潤、転移能の亢進は、Raf-キナーゼでは説明できない。最近、私共は Ras の新しい標的蛋白質として AF-6 を同定している。AF-6 が細胞間接着に局在し、細胞接着構成分子である ZO-1 と結合することも見出している。活性型 Ras が AF-6 と ZO-1 を介して、細胞接着能を低下させて、癌細胞の浸潤性を高めている可能性が高いと考えている (図3)。

3. 研究の体制

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科教授・貝淵弘三をプロジェクトリーダーとして、愛知県がんセンター研究所・生化学部部長・稲垣昌樹をコアリーダーとした共同研究体制で、上述した研究目的を遂行する。

期 間：1997 年 7 月～2002 年 3 月

構 成：プロジェクトリーダー 1 名、コアリーダー 1 名、研究協力者 5 名

実施場所：奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科細胞内情報学講座

図1. Rhoを介する細胞骨格と接着の制御機構

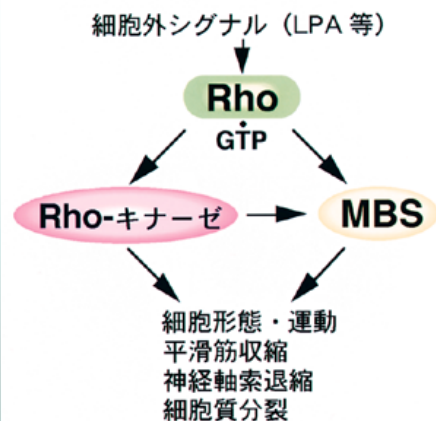


図2. Cdc42/Racを介する細胞骨格と接着の制御機構

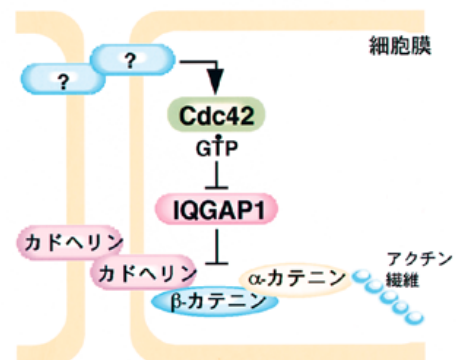


図3. Rasを介する細胞骨格と接着の制御機構

