

氏名	竹 田 寛
学位（専攻分野）	博士（学術）
学 位 記 番 号	総研大甲第148号
学位授与の日付	平成 7 年 3 月 2 3 日
学位授与の要件	生命科学研究科 生理科学専攻 学位規則第4条第1項該当
学 位 論 文 題 目	Modulation of Cadherin adhesion by Tyrosine Phosphorylation and its Relationship to Tight Junction Integrity in Temperature-sensitive v-src-transfected MDCK Cells
論 文 審 査 委 員	主 査 教 授 小 幡 邦 彦 教 授 池 中 一 裕 教 授 岡 田 泰 伸 教 授 山 岸 俊 一 教 授 月 田 承 一 郎（京都大学）

論文内容の要旨

Using temperature-sensitive v-src-transfected MDCK cells, He analyzed the modulation of cadherin-based cell adhesion states by tyrosine phosphorylation and their relationship with tight junction integrity. Cell aggregation and dissociation assays at non-permissive and permissive temperature revealed that there are two states of cadherin-based cell adhesion, namely strong and weak, and that elevating the tyrosine phosphorylation level shifts the cadherin-based cell adhesion from the strong to the weak state. When ts-v-src MDCK cells were cultured to confluence at the permissive temperature (weak adhesion), the epithelium-like morphology was maintained, where cadherin based cell-to-cell adherens junctions were destroyed. In these epithelium-like cell sheets, the structural integrity and the barrier function of tight junctions were not significantly affected. In contrast, as previously reported, the dysfunction of cadherin induced by the removal of extracellular Ca^{2+} resulted in the complete destruction of tight junctions. These data indicated that to maintain tight junction integrity, at least the weak adhesion state of cadherin-based cell adhesion is required, and that in sharp contrast to adherens junctions, the structure and function of tight junctions are not significantly modulated by an increase in the tyrosine phosphorylation level. He found that among various types of adherens and tight junction undercoat-constitutive proteins, the activation of ts-v-src kinase elevated the tyrosine phosphorylation levels of β catenin, ZO-1, ZO-2, ezrin, radixin, and moesin, but not of α catenin, vinculin, and α -actinin.

審査結果の要旨

細胞間接着の制御機構の解析は、現代医学生物学の重要な研究分野の一つである。細胞と細胞は、細胞間接着装置と呼ばれる特殊に分化した細胞膜ドメインを介して接着している。脊椎動物では、この接着装置としては、タイトジャンクション (TJ)、アドヘレンスジャンクション (AJ)、デスモソーム (DS)、およびギャップジャンクション (GJ) の4種類が知られている。このような接着装置の構造と機能がどのような分子機構で制御されているかについては、不明の点が多い。

申請者、竹田寛氏は、チロシンリン酸化のシグナルによる細胞間接着装置、特にAJとTJの構造と機能の制御機構について解析を行った。用いた細胞は、温度感受性の *v-src* キナーゼを強制発現させた腎上皮細胞株 (*ts-v-src-MDCK*) である。この細胞は、癌細胞の浸潤機構を解析するために開発されたものであるが、培養温度の上下だけで *v-src* キナーゼ活性を簡便にオンオフ出来る利点がある。申請者は、この利点を巧みに利用して、*v-src* キナーゼ活性化、不活性化に伴うAJとTJの変化について、形態学的生化学的に解析を行い、以下のような結果を得た。(1) AJの接着分子であるカドヘリンの接着活性には、strong state と weak state の2つの状態が存在し、チロシンリン酸化レベルの上昇により、カドヘリンは strong state から weak state に移行する。(2) それぞれの状態に対応して、この上皮細胞は、典型的なAJ構造の形成と破壊を行う。(3) 細胞が confluent な状態ではカドヘリンが weak state (すなわち高いチロシンリン酸化レベル) にあってもTJの構造は破壊されない。(4) このとき、TJの機能 (transepithelial resistance) は70%ぐらいにまでしか低下しない。

(5) *v-src* キナーゼ活性化により、これまで細胞間接着の制御に重要といわれてきたβカテニン以外にも、重要な細胞膜裏打ち蛋白質 (ERM、ZO-1、ZO-2) がチロシンリン酸化される。これらの結果から、チロシンリン酸化の亢進により、まず複数の裏打ち蛋白質のリン酸化によりAJの構造と機能に変化が生じ、その2次的効果としてTJの機能阻害が引き起こされるのではないかと推察された。

以上の研究は、形態形成および種々の病態 (特に細胞癌化) における細胞接着の制御機構に関する我々の理解を深めるものであり、博士 (学術) を授与するに値するものと判定された。

また、審査委員会は、竹田寛氏の提出論文の内容および医学生物学一般の知識について、試問を行った。その結果、竹田氏は、本人の行った研究に関連する知識、および、医学生物学全般における知識を十分に有していた。また、研究の位置付けも理解していると判定された。Journal of Cell Science に比較的長い論文を投稿中であること、および試問の結果を総合すると、竹田氏の英語の能力も十分なレベルにあると判断された。

以上により、審査委員会は、竹田寛氏の論文内容、学識、語学力ともに博士 (学術) を授与するに値すると判定した。