

令和元年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		Src 発現による細胞逸脱の分子メカニズムの解明
新規・継続の別		新規 ・ 継続
研究代表者	所属	大阪大学 微生物病研究所
	職名・氏名	助教・梶原 健太郎
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	
	職名・氏名	
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	教授・藤田 恭之
概要 (100～150 字程度)		がん化の過程で、がん化細胞は細胞競合を回避すると考えられているが、そのメカニズムは不明である。申請者らは、細胞系譜の異なる細胞では、細胞逸脱の方向性が変わること注目して比較解析を実施した。その結果、がん遺伝子産物 Src が脂質ラフトに集積する場合には細胞競合を凌駕して浸潤することを明らかにした。
研究目的 (300 字程度)		正常細胞と変異細胞の間のせめぎあい「細胞競合」は、がん細胞の排除システムのひとつと考えられ、その分子メカニズムの理解が急速にすすんできた。しかし、不明な点が多く残されており、がん細胞が細胞競合を回避するメカニズムの詳細は分かっていない。申請者はがん遺伝子Srcを過剰発現させたMDCK細胞をモデルとして上皮細胞層における細胞競合現象の解明に向けた研究を進めてきた。その過程で、一部のSrc発現細胞は細胞競合を凌駕して基底膜側へ浸潤することを見いだした。この細胞逸脱の方向性を決める分子メカニズムを理解することで、細胞競合の本質に迫り、がん細胞を排除する戦略を策定することを目指す。
研究内容・成果 (1000 字程度)		これまでの解析から、藤田らが作製した MDCK 細胞は Src 発現誘導後に管腔側へ排除されるが、申請者が新たに作製した MDCK 細胞の場合は基底膜側に浸潤することを見出していた。細胞系譜の異なる二種類の細胞特性の違いを解析した結果、Src の脂質ラフトへの集積の程度が異なることを見出した。申請者らの細胞では Src の集積が早く、またその割合が高かった。そこで、Src を脂質ラフトの内外へ強制的に移行させるシステムを新たに構築して解析を行った。その結果、Src が脂質ラフト内に集積する場合には、その細胞は基底膜側に浸潤すること、また脂質ラフト外で集積する場合には、管腔側へ排除されることを明らかにした。

	次に、この Src の脂質ラフトへの集積の程度を規定する原因を解析した。脂質ラフトを構成するコレステロールの代謝を解析したが、両細胞ともに Src の活性化によって増加しており、その変動に有意な差は認められなかった。そこで、Src の脂質ラフトへの集積を促すタンパク質の探索を行った。二種類の細胞から Src 誘導後の脂質ラフトをそれぞれ回収して、申請者らの細胞に多く存在する Src 結合タンパク質をプロテオミクス解析により探索した。その結果、膜タンパク質 Rsp1 を同定した。Rsp1 は脂質ラフト移行シグナルと Src 結合モチーフを有していたことから、Src 集積を担うタンパク質であることが推測された。そこで、Rsp1 を過剰発現させたところ Src の活性化の誘導と、活性化 Src の脂質ラフト内への集積を確認した。そこで Rsp1 過剰発現細胞を作製して、細胞競合の解析を行ったところ、その細胞は基底膜側に浸潤した。これに対して、Rsp1 の脂質ラフト移行モチーフに変異を導入したところ、Src の活性化と集積は脂質ラフト外で起こることを確認し、細胞競合条件においてその過剰発現細胞は管腔側へ排除されることを明らかにした。これらの解析結果から、Src の脂質ラフトへの集積が基底膜側への浸潤に重要であること、それを担うタンパク質として Rsp1 が関与することを明らかにした。 以上の研究成果から、Src の集積場所の違いによって、細胞逸脱の方向性が変わることで、すなわち細胞競合での排除・回避の運命が決まることが明らかになった。また、がん細胞での Rsp1 の過剰発現や脂質代謝の異常が、細胞競合によるがん細胞排除システムを不全へと導く可能性が考えられた。
成果	【学会報告】 なし
	【論文発表】 なし
	【新聞報道】 なし