

論文の内容の要旨

論文題目 ホスファチジルイノシトール 4-リン酸 5-キナーゼの細胞内局在解析

氏名 秋山 千起

細胞膜を構成するリン脂質ホスファチジルイノシトール (phosphatidylinositol ; PI) のリン酸化誘導体である phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P₂) は、G タンパク質共役型受容体のエフェクターである phospholipase C の基質として古くから知られてきた。一方、PI(4,5)P₂ 自身はシグナル分子や actin 結合タンパク質、小胞輸送に関わる分子などと相互作用をし、それらの機能や細胞内局在を制御する役割も有している。ゆえに、PI(4,5)P₂ を産生する酵素である phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase (PIP5K) は、さまざまなシグナル伝達経路や細胞機能に関与している可能性が考えられ、90 年代後半のクローニング以来、その局在、活性化調節機構、細胞骨格制御や細胞内小胞輸送などを始めとした様々な生理機能に関する研究が進められてきている。

本研究では PIP5K の細胞内局在観察をおこなった。PIP5K γ 661 は細胞-細胞外基質接着部分へ局在し、接着斑である focal adhesion 形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている。ヒト epidermoid carcinoma A431 細胞に、アデノウイルス発現系を用いてもう一つの PIP5K γ サブタイプである PIP5K γ 635 を発現させると、細胞-細胞間接着部分および細胞内 vesicle に局在が観察された。一方、細胞-細胞外基質接着部分への PIP5K γ 635 の局在は、PIP5K γ 661 と異なり認められなかった。細胞-細胞間接着部分では、上皮性細胞の細胞-細胞間接着構造に含まれる actin、E-cadherin、 β -catenin と PIP5K γ 635 が共局在していた。細胞培養液中の calcium ion 濃度を下げることで細胞-細胞間接着を阻害したところ、PIP5K γ 635 は E-cadherin、actin と同様に細胞表面に局在しなくなった。また actin 重合阻害剤である cytochalasin D 処置によっても細胞-細胞間接着部分のアクチン骨格構造が破壊され、PIP5K γ 635 の細胞膜近傍からの解離が認められた。以上、上皮性細胞においては、PIP5K γ 635 は細胞外基質との接着を維持している FA には局在せず、細胞相互の接着構造部位に局在し、actin 重合阻害または calcium ion 除去による接着構造の破壊とともに細胞間接着部位の細胞膜には局在しなくなる。細胞相互の接着構造への特異的な局在は、PIP5K γ 635 という C 末端部分の短い PIP5K γ アイソフォームが、細胞間接着構造の形成と維持に特異的に関与していることを示唆していると考えられる。2 種類の PIP5K γ が細胞-基質の接着と細胞間接着構造をどのように制御しているかを明らかにすることは今後の細胞生物学において重要な課題と思われる。