

令和元年5月29日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06998

研究課題名(和文) 癌細胞による細胞外マトリックスリモデリング受容機構における脂質ラフトの役割

研究課題名(英文) The role of lipid rafts in recognition of extracellular matrix remodeling by cancer cells

研究代表者

村井 稔幸 (MURAI, TOSHIYUKI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20311756

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：がん細胞は、腫瘍組織に形成される細胞外マトリックスとの相互作用を通して浸潤能を獲得し、転移する。本研究では、ヒアルロン酸とそのレセプターであるCD44との相互作用が、細胞膜における脂質ラフトにより調節される機構の詳細を明らかにした。本研究成果は、脂質ラフトの役割に焦点を当てたがん浸潤・転移の分子機構の解明を通じて、その予防・治療法の開発に貢献できる。また、炎症性疾患の予防・治療法の開発にも寄与できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞外マトリックスリモデリングは組織構築・破壊に必須の現象であり、国内外において活発に研究されている。しかし、細胞外マトリックスリモデリングにおける脂質ラフトの役割はほとんど知られていなかった。この点について、本研究を通して世界に先駆けて成果を得た。本研究により、癌浸潤を阻止する新規な手法の開発に向けた基礎的データを提供できる。神経変性疾患や感染症など、脂質ラフトが関与する疾患の病態解明や治療法の開発への波及効果は計り知れない。

研究成果の概要(英文)：Hyaluronan is a major component of the extracellular matrix and plays pivotal roles in inflammation and cancer. Lipid rafts are cholesterol- and glycosphingolipid-enriched membrane microdomains that may regulate membrane receptors while serving as platforms for transmembrane signaling at the cell surface. In this study, we further demonstrated that lipid rafts regulate the interactions between hyaluronan and its receptor CD44, and control the cell adhesion and migration. Our results propose a possible molecular mechanism underlying cell migration. The regulation and manipulation of hyaluronan-CD44 interactions through lipid rafts have potential applications for the prevention of inflammatory disorders and cancer.

研究分野：生物学

キーワード：細胞・組織 シグナル伝達 分子認識

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

(1) がん細胞は、腫瘍組織に形成される細胞外マトリックス (extracellular matrix) との相互作用を通して浸潤能を獲得し、転移する。特に、細胞外マトリックスのリモデリング (extracellular matrix remodeling) は、がん細胞の遊走・浸潤を亢進し、がんの進展に寄与すると考えられており、生物学的にも医学的にも非常に重要な現象である。

(2) したがって、がん細胞による細胞外マトリックスリモデリングの受容機構の解析は、がんの進行を阻止する手段の開発において鍵となる要素であると考えられる。

(3) 本研究代表者は、これまでに、がん細胞の細胞膜近傍における細胞外マトリックスのリモデリングが、がん細胞の浸潤・転移能において重要な役割を担っていることを見出した。

(4) 細胞膜上のコレステロールやスフィンゴ糖脂質に富んだ微小なドメイン構造である脂質ラフト (lipid raft) は、細胞膜における情報変換の中心的な部位であると考えられ、近年世界的に注目されている (文献 ①)。本研究代表者は、脂質ラフトが、がん細胞と細胞外マトリックス構成分子との相互作用、および、がん細胞の浸潤性において、重要な役割を担っていることを見出した。

(5) しかし、脂質ラフトは、非常に微小なドメイン構造であり、光の回折限界の理由から、従来型の光学顕微鏡を用いては明瞭に可視化することは出来ないという問題点があった。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究は、細胞外マトリックスのリモデリングを、がん細胞が細胞表面の膜貫通レセプターを介して分子認識し、そして、細胞膜を介して細胞の内部へとシグナルを伝達する分子機構のさらなる解明をおこなうことを目的とした。

(2) 本研究課題では、特に、これまでの研究成果を発展させるため、細胞膜脂質ラフトの役割に焦点を当て、これまで不明であったメゾスコピックな膜ダイナミクスによる細胞接着の動的秩序形成機構を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 細胞外マトリックスリモデリング受容機構における脂質ラフトの役割について、生化学的解析と顕微鏡解析などをおこなった。特に、腫瘍組織に形成される細胞外マトリックスの主要構成分子であるヒアルロン酸と、その細胞表面レセプターである CD44 に着目した。

(2) 特に、脂質ラフトは光の回折限界の理由から従来の通常型の光学顕微鏡を用いては可視化することは出来ないという問題点を解決するため、本研究課題においては、細胞外マトリックスリモデリングをがん細胞が受容するときの脂質ラフトの役割について、電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope) などを用いて解析をおこなった。

### 4. 研究成果

(1) 生化学的解析においては、脂質ラフトを標的とする化合物により、細胞外マトリックスの代表的なレセプターである CD44 の膜局在が変化することを見出した。ショ糖密度勾配遠心分離による界面活性剤不溶性膜画分 (detergent-resistant membrane) 調製法および酵素結合免疫吸着測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay) により、化合物を投与したときの生細胞について生化学的な脂質ラフト解析などをおこなった。

(2) 細胞膜における分子の膜ドメイン局在を可視化する既存の方法には、光学顕微鏡による一分子追跡法や超解像法、電子顕微鏡による凍結切断レプリカ標識法などがある。脂質ラフトの大きさは 10 nm から 200 nm の範囲にあるとする報告（文献 ②）もあり、光の回折限界の理由から、通常の従来型光学顕微鏡では正確に捉えられないと考えられている。本研究においては、電子顕微鏡（Scanning Electron Microscope）などを用いて、解析をおこなった。これらの顕微鏡像について、画像解析をおこなった。その結果、上記の機構において、細胞表面の微絨毛（Microvilli）が関与する可能性を示唆する知見を得た。

(3) 脂質膜に作用する化合物の効果を光学顕微鏡を用いて解析したところ、特定の構造を有する化合物が、生細胞において膜ドメイン形成を制御することを見出した。

(4) 上記の (3) で作用を見出した化合物は、細胞外マトリックスレセプターCD44 の膜局在を変化させる作用があることを見出した。

(5) 上記の (3) および (4) の結果より、細胞膜におけるドメイン形成（脂質ラフト）と CD44 の膜局在との相関を見出した。

(6) 本研究により、ヒアルロン酸と、そのレセプターである CD44 との相互作用が、細胞膜における脂質ラフトにより調節されていることが明らかとなった（図 1）。

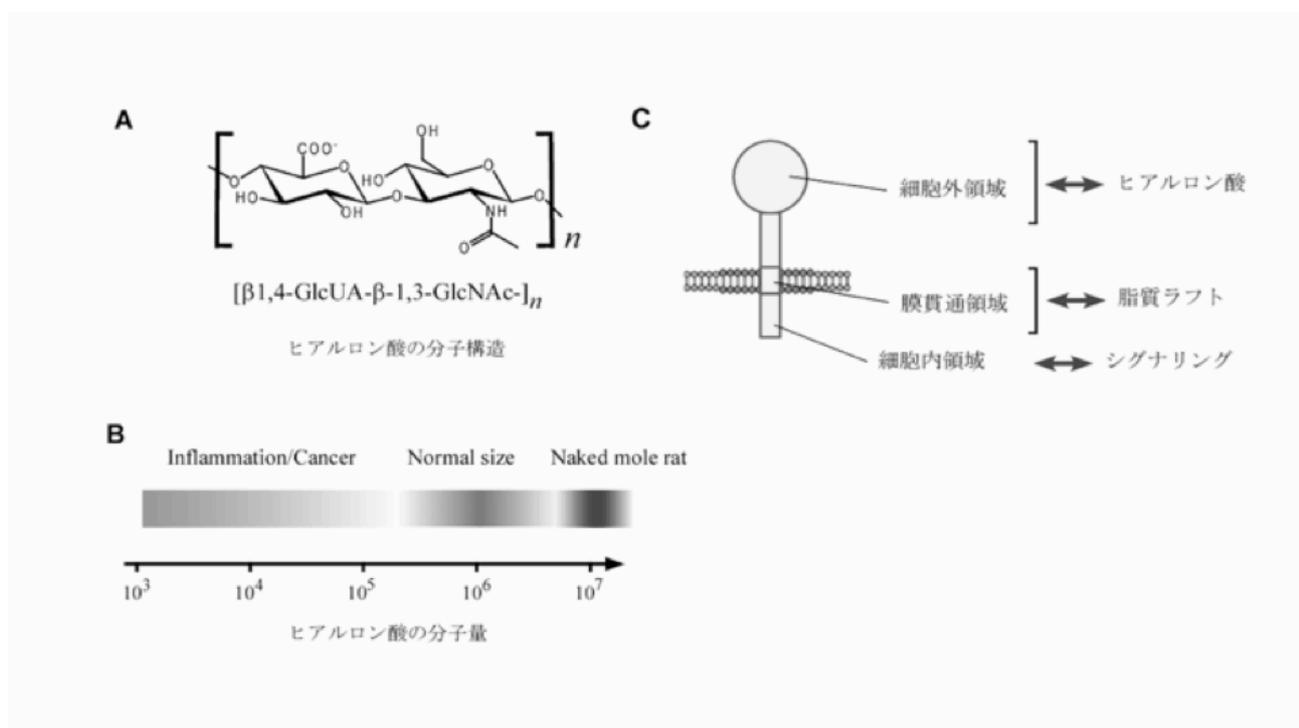


図 1. ヒアルロン酸の分子構造 (A) およびサイズ分布 (B)、ならびにその脂質ラフトにおける CD44 との相互作用 (C) .

(7) 本研究成果は、細胞外マトリックスリモデリング受容機構における脂質ラフトの役割に焦点を当てたがん浸潤・転移の分子機構の解明を通じて、その予防・治療法の開発に向けた基礎的知見を提供するものである。また、炎症などの免疫疾患の予防・治療法の開発にも寄与する可能性を有する。さらに、今後の展望として、神経変性疾患や感染症など、脂質ラフトが関与する疾患の病態解明や治療法の開発への貢献も期待できる。

<引用文献>

① Michael B. Fessler and John S. Parks. Intracellular lipid flux and membrane

microdomains as organizing principles in inflammatory cell signaling. The Journal of Immunology, Vol. 187, No. 4, pp. 1529-1535 (2011)

- ② Linda J. Pike. Rafts defined: a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and ,Cell Function. Journal of Lipid Research, Vol. 47, No. 7, pp. 1597-1598 (2006)

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計3件)

- ① 村井 稔幸  
タンパク質の一次構造解析  
生物工学 Vol. 96, No. 4, pp. 208-210 (2018) 査読有り
- ② Toshiyuki Murai.  
Lipid raft-mediated regulation of hyaluronan-CD44 interactions in inflammation and cancer.  
Frontiers in Immunology Vol. 6, Art. No. 420, pp. 1-9 (2015) 査読有り  
doi: 10.3389/fimmu.2015.00420
- ③ Toshiyuki Murai.  
Cholesterol lowering: role in cancer prevention and treatment.  
Biological Chemistry Vol. 396, No. 1, pp. 1-11 (2015) 査読有り  
doi: 10.1515/hsz-2014-0194

[図書] (計1件)

- ① Toshiyuki Murai 他  
Frontiers Media SA  
Interaction between hyaluronic acid and its receptors (CD44, RHAMM) regulates the activity of inflammation and cancer  
2016年、218  
ISBN: 978-2-88919-913-6

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8桁)：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。