

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24570154

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ていることを明らかにした。本研究結果は、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 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

## 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はがん細胞の遊走・浸潤を助長し、がんの進行に寄与する。

(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。

(3) 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) 特に、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が、分解酵素の作用を受けて低分子化することが鍵であり、このようにして生じた低分子量ヒアルロン酸が、がん浸潤促進作用を有することを明らかにした。

(5) さらに、細胞膜上の脂質ラフトによる微小ドメイン構造が、がん細胞とヒアルロン酸との相互作用、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。

## 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、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

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。

## 4. 研究成果

(1) 生化学的解析においては、脂質ラフトの破壊処理により、細胞外マトリックスの代表的なレセプターである CD44 の活性が変化することを見出した。ショ糖密度勾配遠心分離法による界面活性剤不溶性膜画分 (DRM) の調製を行い、CD44 の脂質ラフト局在性の変化を解析した。

(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 の範囲にあり、光の回折限界の理由から通常の光学顕微鏡では正確に捉えられないと考えられている。一方、電子顕微鏡は遥かに高い分解能を有するが、従来の電子顕微鏡法では試料を真空下に置くために脱水処理をする必要があった。そうした状況の中、大気圧走査電子顕微鏡 (atmospheric scanning electron microscope) による観察をおこなった。

(3) 直径 1.4 nm の金ナノ粒子を金増感した大気圧走査電子顕微鏡による免疫電子顕微鏡法により、脂質ラフト破壊による CD44 の細胞表面分布の変化が観察できた (図 1)。

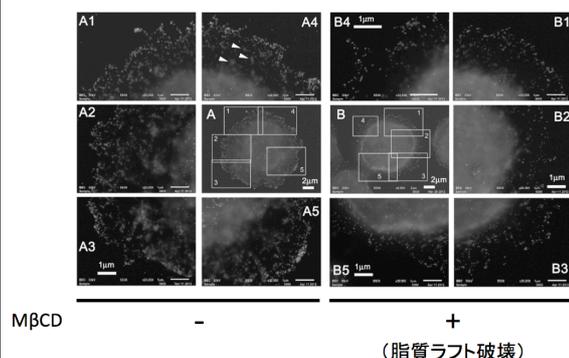


図 1. 脂質ラフト破壊による CD44 の細胞表面分布の変化。



International Journal of Molecular Sciences Vol. 14, pp. 20809-20819 (2013) 査読有り  
doi: 10.3390/ijms141020809

- ⑤ Toshiyuki Murai, Chikara Sato, Mari Sato, Hidetoshi Nishiyama, Mitsuo Suga, Kazuhiro Mio, and Hiroto Kawashima.

Membrane cholesterol modulates the hyaluronan-binding ability of CD44 in T lymphocytes and controls rolling under shear flow.

Journal of Cell Science Vol. 126, pp. 3284-3294 (2013) 査読有り  
doi: 10.1242/jcs.120014

- ⑥ 村井 稔幸.

膜脂質ドメインと細胞ダイナミクス  
生物工学 (日本生物工学会誌) Vol. 91, No. 1, p. 21 (2013) 査読有り

- ⑦ 海老原 達彦, 村井 稔幸, 西山 英利, 佐藤 真理, 須賀 三雄, 佐藤 主税.

大気圧走査電子顕微鏡 (ASEM) による水中免疫電顕法: タンパク質複合体のダイナミックな離合集散と細胞内移動.  
Immuno Correlative Microscopy in Solution Using Atmospheric Scanning Electron Microscope (ASEM): Observation of Dynamic Rearrangements of Molecular Complexes.

顕微鏡 (日本顕微鏡学会誌) Vol. 48, No. 2, pp. 107-112 (2013) 査読有り

[学会発表] (計 1 件)

- ① 大気圧走査電子顕微鏡を用いた様々な応用例.

佐藤 主税, 西山 英利, 須賀 三雄, 村井 稔幸, 三尾 和弘, 丸山 雄介, 海老原 達彦.

第 44 回 日本臨床分子形態学会・学術集会 (高知市文化プラザ) 平成 24 年 9 月 28 日

## 6. 研究組織

### (1) 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

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: