

平成 22年 5月 1日現在

研究種目： 基盤研究(A)
研究期間： 2007 ~ 2010
課題番号： 19209013
研究課題名 (和文) Aktの新規基質Girdinとそのファミリー分子の機能多様性と病態における役割
研究課題名 (英文) Physiological functions of the Akt substrate Girdin and its family proteins and their roles in pathogenesis
研究代表者
高橋 雅英 (TAKAHASHI MASAhide)
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号： 40183446

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 基礎医学 ・ 実験病理学

キーワード： Girdin、 Akt、 アクチン結合蛋白、 細胞運動、 がん細胞の浸潤、 血管新生、 神経新生

1. 研究計画の概要

われわれは酵母 two-hybrid 法を用いたスクリーニングにより、Akt の新規基質である Girdin (Girders of actin filament の略) を発見し、Girdin が Akt の下流で細胞運動に重要な役割を果たしていることを明らかにした。機能解析により Girdin が新規アクチン結合蛋白であり、Akt によってリン酸化を受けるとアクチン線維の再構成を生じ、運動している細胞の先端端におけるラメリポディアの形成に関与していることを証明した。本研究ではわれわれが発見した Akt-Girdin シグナル伝達系の細胞運動、特にがん細胞の浸潤・転移、血管形成、神経細胞の移動・極性決定における機能を細胞生物学的に解析するとともに遺伝子組み換え動物 (Girdin 遺伝子のノックアウトマウス、Akt によるリン酸化部位に変異を導入したノックインマウスなど) を作製して個体レベルで解析し、その生理学的、病理学的意義を解明する。さらに Girdin のほかの2つのファミリー蛋白の機能解析を推進し(Daple については Wnt シグナル伝達系における役割)、ファミリー蛋白の細胞内、個体レベルでの機能多様性を明らかにすることにある。

2. 研究の進捗状況

免疫染色法による解析の結果、Girdin は生体内では未熟な血管内皮細胞、周皮細胞や海馬の神経細胞、嗅球の形成に重要な rostral migratory system (以下 RMS) を構成する神経細胞で強く発現していた。Girdin のノックアウトマウスは生後直後においては野生型の間に明瞭な肉眼的な変化を認めないものの、組織学的には生後形成される網膜および大脳の血管ネットワークと海馬および嗅球の

構造異常が認められた。この結果は、Girdin は胎生期における脈管形成や器官形成においてではなく、生後の血管新生と神経発生において重要な役割を果たす分子であることを示した。血管新生には VEGF による Akt 活性化とそれに引き続く Akt による Girdin のリン酸化が重要であった。一方、神経細胞では Girdin が統合失調症や双極性障害(躁うつ病)の脆弱因子として最近注目されている DISC1(Disrupted-In- Schizophrenia 1) と分子複合体を形成し、海馬における新生ニューロンの移動と分化を制御していることを示す結果を得た。

さらに、Akt-Girdin シグナル伝達系の腫瘍細胞の増殖、浸潤における役割についてヒトの MDA-MB-231 乳癌細胞を用いて検討した。MDA-MB-231 細胞に Girdin の short hairpin 型 siRNA をトランスフェクトし、Girdin の発現をノックダウン(KO)した結果、細胞運動能が著しく低下した。さらに、細胞株をヌードマウスの皮下に移植して造腫瘍能を比較した結果、MDA-MB-231-Girdin KO 細胞では細胞増殖には影響を与えないものの、浸潤、転移能の有意な低下をきたした。以上の結果より Girdin のノックダウンは、腫瘍細胞の運動能、増殖能を低下させることが明らかになった

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

Girdin のノックアウトマウスの解析の結果、Girdin が生後の血管新生、神経新生に極めて重要な役割を果たしていることが明らかになり、そのメカニズムの一端を明らかにした (Nature Cell Biol. 2008; Neuron 2009)。

4. 今後の研究の推進方策

(1)Girdin ノックアウトマウスおよびリン酸化されないGirdin 変異体ノックインマウスの表現系をより詳細に解析する他、成体において時期を選んで発現制御が可能なコンディショナル遺伝子改変マウスを作成し、生後の血管新生、神経新生におけるGirdinの機能を解析する。

(2) Girdin のファミリー分子 (Daple および FLJ00354)の機能について、細胞生物学的解析と遺伝子改変動物作成による表現系解析を行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件) すべて査読有

1. Weng, L., Enomoto, A., Ishida-Takagishi, M., Asai, N. and Takahashi, M.
Girdin for migratory cues: Role of the Akt substrate Girdin in cancer progression and angiogenesis.
Cancer Sci. in press.
2. Jiang, P., Enomoto, A. and Takahashi, M.
Cell biology of the movement of breast cancer cells: intracellular signaling and the actin cytoskeleton.
Cancer Lett. 284: 122-130 (2009).
3. Enomoto, A., Asai, N., Namba, T., Wang, Y., Kato, T., Tanaka, M., Tatsumi, H., Taya, S., Tsuboi, D., Kuroda, K., Kaneko, N., Sawamoto, K., Miyamoto, R., Jijiwa, M., Murakumo, Y., Sokabe, M., Seki, T., Kaibuchi, K. and Takahashi, M.
Roles of Disrupted-in-Schizophrenia 1-interacting protein Girdin in postnatal development of the dentate gyrus
Neuron 63: 774-787 (2009).
4. Puseenam, A., Yoshioka, Y., Nagai, R., Hashimoto, R., Suyari, O., Itoh, M., Enomoto, A., Takahashi, M. and Yamaguchi, M
A novel Drosophila Girdin-like protein is involved in Akt pathway control of cell size.
Exp. Cell Res. 315: 3370-3380 (2009).
5. Kitamura, T., Asai, N., Enomoto, A., Maeda, K., Kato, T., Ishida, M., Jiang, P., Watanabe, T., Usukura, J., Kondo, T., Costantini, F. and Murohara, T. and Takahashi, M.
Regulation of VEGF-mediated angiogenesis by the Akt/PKB substrate Girdin.
Nature Cell Biol., 10:329-337 (2008).
6. Jiang, P., Enomoto, A., Jijiwa, M., Kato, T., Hasegawa, T., Ishida, M., Sato, T., Asai, N., Murakumo, Y., and Takahashi, M.
An actin-binding protein Girdin regulates the motility of breast cancer cells.
Cancer Res., 68:1310-1318 (2008).

[学会発表] (計 5 件)

1. 高橋雅英
Akt の基質蛋白 Girdin の細胞運動における役割
第 82 回日本生化学会大会 2009 年 10 月 23 日 (神戸)
2. Takahashi, M.
Role of an actin-binding protein Girdin in cancer cell motility and angiogenesis.
Global Center of Excellence (COE) Program, 1st International Symposium Signaling of Cancer Cells
January 23, 2009 (Nagoya)
3. 高橋雅英
アクチン結合蛋白 Girdin のがん転移、血管新生、神経系における機能
第 1 回グローバル COE 国内シンポジウム
2008 年 11 月 14 日 (名古屋)
4. 高橋雅英
Akt の新規基質 Girdin の細胞運動と血管新生における役割
第 5 回日本病理学会カンファレンス 「がん」と「幹細胞」 2008 年 8 月 1 日 (湘南国際村)
5. 高橋雅英
Akt の新規基質 Girdin の細胞運動と血管新生における役割
第 3 次対がん 10 年総合戦略
第 2 回合同シンポジウム 「がんの罹患率と死亡率の激減を目指して」
2008 年 2 月 29 日 (東京)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/patho2/>