

Analysis of regulatory mechanism for cell polarity formation by JNK binding molecules during migration

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Takino, Takahisa メールアドレス: 所属: |
| URL | https://doi.org/10.24517/00034751 |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



JNK結合分子による細胞運動極性 制御機構の解析

(課題番号 16590241)

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成18年5月

研究代表者 滝野 隆久
(金沢大学がん研究所助教授)

金沢大学附属図書館

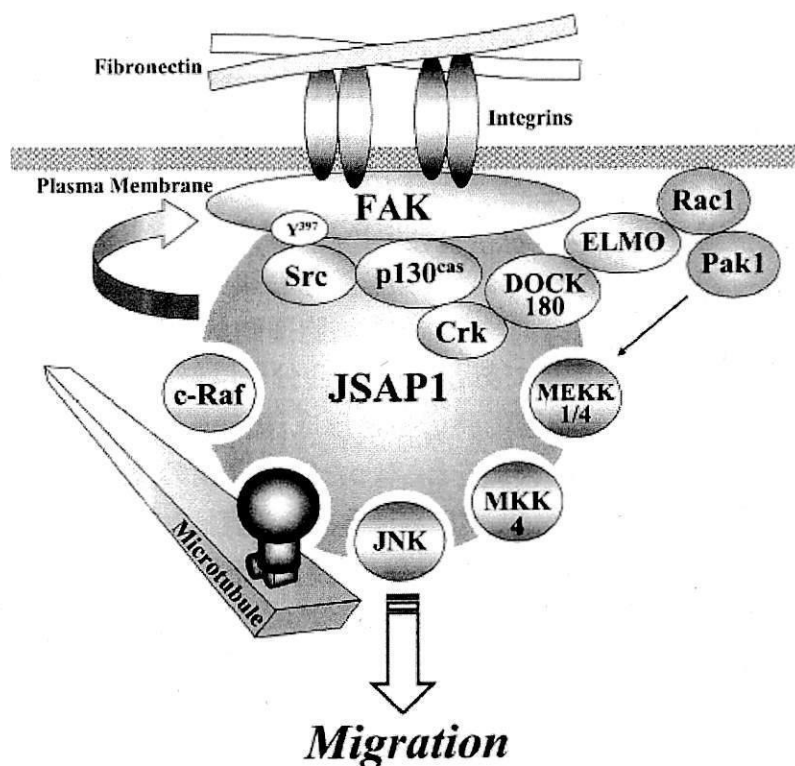


0800-04192-5

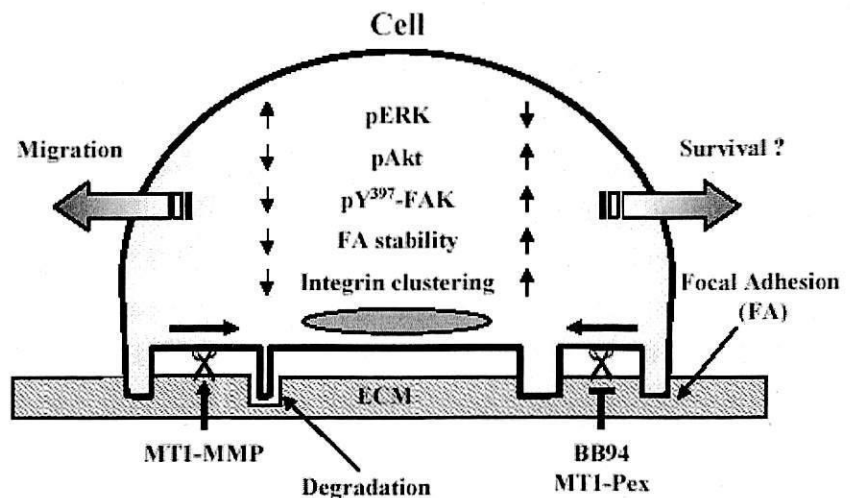
研究概要

細胞外マトリックス分解と細胞運動が協調的に働くことががんの浸潤・転移の成立には必須となる。細胞の細胞外マトリックス(extracellular matrix, ECM)への接着によるインテグリンの集積は細胞内でFocal Adhesion Kinase (FAK)の集積および自己リン酸化を引き起こし、c-Src、paxillin等様々な情報伝達分子の細胞接着斑への凝集とリン酸化を誘導する。その結果MAPKやPI-3 kinaseの活性化が誘導され、遺伝子発現、細胞増殖、細胞運動が制御されている。中でもJNKやERKの活性化が細胞運動時における極性形成に重要であると考えられている。一方、浸潤性がん細胞は主にmembrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP)によって積極的にECMを分解、再構築している。このECMの分解は単なる障壁の破壊だけではなく、周囲の微小環境を調節する作用も持つ。ECMにより誘導される細胞運動にはインテグリン/FAK経路が重要であり、この経路はERKやJNKの活性化も制御している。最近JNKとERKは細胞接着斑の構成分子であるpaxillinを直接リン酸化することで細胞接着斑のturnoverと細胞運動を制御していることが証明された。しかし、これらのMAPKが細胞接着斑でその構成分子を基質とする機序については不明である。本研究ではMAPKの足場蛋白JNK/SAPK-associated protein 1 (JSAP1)やCrkなどJNK結合分子のECMにより誘導される細胞運動における役割、特にFAKおよびMT1-MMPとの関係について解析した。

FAK活性はJSAP1とp130casの共発現により増強され、その結果JSAP1とp130casのリン酸化を亢進した。JSAP1をグリオーマ細胞株U87MG細胞に遺伝子導入するとJNKのリン酸化が誘導され、fibronectin (FN)上での細胞運動が亢進された。しかし、JNK結合部位を欠質したJSAP1変異体発現では細胞運動の亢進は認められなかった。JSAP1を遺伝子導入した細胞の運動先端部にJNKとJSAP1の集積が認められ、細胞運動はJNK阻害剤により抑制された。また、脳腫瘍組織を用いてMAPK足場蛋白(JIP-1, -2, JSAP1)のmRNA発現を検討した結果、JSAP1の発現と悪性度に正の相関が認められた。JSAP1は運動細胞の先端部にJNKを誘導し、FAKを介したJNK活性化経路を亢進することにより細胞運動を調節していると考えられた。



HT1080細胞のI型コラーゲンおよびFN上での細胞運動はMMP阻害剤BB94により抑制され、ECM分解の減少、細胞接着斑の過形成と運動極性の喪失が認められた。一方MT1-MMPの過剰発現はECM分解、細胞運動と細胞接着斑のturnoverの亢進を誘導し、dominant-negative体の発現でその抑制が認められた。HT1080細胞のBB



94処理は細胞接着により誘導されるERK活性化を抑制する一方で、FAKの自己リン酸化(チロシン397番)を亢進していた。以上の結果からMT1-MMPは細胞接着により誘導されるERK活性化、FAKの自己リン酸化を調節することにより細胞接着斑、細胞運動を制御していることが示唆された。

結語

JSAP1はMAPK活性化の特異性と時空間的制御を規定する因子であると考えられる。最近、JSAP1欠損マウスの脳組織ではFAKの397番チロシンの自己リン酸化が低下していること、RhoAとそのエフェクター分子の発現が低下していることが報告された。本研究から得られたJSAP1が運動細胞の先端部にJNKを誘導し、FAKを介したJNK活性化経路を助長することにより細胞運動を亢進する結果と最近の知見とは一致すると考えられる。細胞運動時の極性形成・維持機序は方向性を持った細胞運動およびその延長線上にあるがん浸潤・転移の機構を解明する上で重要である。JNK結合分子は細胞接着斑におけるJNKの局在と活性化部位を誘導することで細胞運動時の極性形成・維持を制御していると予想される。また、MT1-MMPによるECMの分解・再編をともなった微小環境の整備が細胞極性形成・維持に密接に関与していると推測される。ECMにおける極性を有した細胞運動とMT1-MMP活性発現の協調的な制御機構を解明することは、がんの浸潤・転移阻止の標的分子の同定、薬剤開発に貢献できるものと思われる。

研究代表者 滝野 隆久
(金沢大学がん研究所 助教授)

研究組織

研究代表者 : 滝野 隆久 (金沢大学がん研究所助教授)

交付決定額 (配分額)

金額単位: 円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|------|-----------|
| 平成16年度 | 1,900,000 | 0 | 1,900,000 |
| 平成17年度 | 1,800,000 | 0 | 1,800,000 |
| 総計 | 3,700,000 | 0 | 3,700,000 |

研究発表

(1) 学会誌等

1. *Takino, T., Watanabe, Y., Matsui, M., Miyamori, H., Kudo, T., Seiki, M., and Sato, H.: Membrane-type 1 matrix metalloproteinase modulates focal adhesion stability and cell migration. *Experimental Cell Research*, 312: 1381-1389, 2006. (*Corresponding author)
2. Ahmad, M., Takino, T., Miyamori, H., Yoshizaki, T., Furukawa, M. and Sato, H.: Cleavage of amyloid-precursor protein (APP) by membrane-type matrix metalloproteinases. *The Journal of Biochemistry*, 139: 517-526, 2006.
3. *Takino, T., Nakada, M., Miyamori, H., Watanabe, Y., Sato, T., Gantulga, D., Yoshioka, K., Yamada, K. M., and Sato, H.: JSAP1/JIP3 cooperates with FAK to regulate c-Jun N-terminal kinase and cell migration. *The Journal of Biological Chemistry*, 280: 37772-37781, 2005, Nov, 11. (*Corresponding author)
4. Sato, H., Takino, T., Miyamori, H. Roles of membrane-type matrix metalloproteinase-1 in tumor invasion and metastasis. *Cancer Science*, 96, 212-217, 2005, Apr.
5. Aoki, T., Sato, D., Li, Y., Takino, T., Miyamori, H. and Sato, H.: Cleavage of apolipoprotein e by membrane-type matrix metalloproteinase-1 abrogates suppression of cell proliferation. *The Journal of Biochemistry*, 137, 95-99, 2005, Jan.
6. Li, Y., Aoki, T., Mori, Y., Ahmad, M., Miyamori, H., Takino, T. and Sato, H.: Cleavage of lumican by membrane-type matrix metalloproteinase-1 abrogates this proteoglycan-mediated suppression of tumor cell colony formation in soft agar. *Cancer Research*, 64, 7058-7064, 2004, Oct, 1.
7. Takino, T., Miyamori, H., Watanabe, Y., Yoshioka, K., Seiki, M. and Sato, H.: Membrane-type 1 matrix metalloproteinase regulates collagen-dependent mitogen-activated protein/extracellular signal-related kinase activation and cell migration. *Cancer Research*, 64: 1044-1049, 2004, Feb, 1.

(2) 口頭発表

1. 滝野隆久「MT1-MMPと細胞運動の協調的制御機構」第4回 口腔医科学フロンティア(2006年2月4日)
2. 滝野隆久、中田光俊、善岡克次、宮森久志、佐藤 博「MAPK足場蛋白JSAP1による細胞運動制御」第64回日本癌学会総会(2005年9月15日)
3. 滝野隆久、宮森久志、佐藤 博「MAPK足場蛋白JSAP1による細胞運動制御機構」第14回 日本がん転移学会総会(2005年6月3日)
4. 滝野隆久、宮森久志、善岡克次、清木元治、佐藤 博「コラーゲン依存的細胞運動におけるMT1-MMPとERK活性化」第63回 日本癌学会総会(2004年9月30日)
5. 滝野隆久、宮森久志、渡辺佑美、善岡克次、清木元治、佐藤 博「Crklによるグリオーマ細胞の運動・浸潤制御」第13回 日本がん転移学会総会(2004年6月10日)

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

該当なし