HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the Endocytic Pathway in Cell Competition-Based Apical Elimination of Transformed Cells from the Epithelium [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	齋藤, 沙弥佳
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第12826号
Issue Date	2017-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/66507
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Sayaka_Saitoh_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（理学）　氏名　齋藤 沙弥佳

審査担当者
主査　教授　坂口 和靖
副査　教授　石森 浩一郎
副査　教授　髙岡 晃教
副査　教授　髙木 睦
副査　教授　藤田 恭之

学 位 論 文 題 名

Study on the Endocytic Pathway in Cell Competition-Based Apical Elimination of Transformed Cells from the Epithelium
（細胞競合による変異細胞の上皮層頂端側排除におけるエンドサイトーシス経路の研究）

本学位論文は全 4 章から構成されている。第 1 章では総括的な序論として研究の背景および目的を述べている。第 2 章では、細胞小器官に関わるタンパク質の局在を蛍光免疫染色で観察し、正常細胞と変異細胞の相互作用に反応して特異的に集積する細胞小器官を探索した。その結果、正常細胞に囲まれた変異細胞において、エンドサイトーシスやタンパク質分解で機能するタンパク質（Rab5/初期エンドソーム、Rab7/後期エンドソーム、LAMP1/リソソーム）が集積していることを明らかにした。変異細胞の単独培養ではこれらの集積が起こらないことから、正常細胞による囲い込みが重要であると推察される。加えて正常細胞に囲まれた Ras 変異細胞では細胞外からのトランスフェリン取り込み量も増加していたことから、正常細胞に囲まれることにより Ras 変異細胞のエンドサイトーシスが亢進することが示唆された。また、Ras 変異細胞のエンドサイトーシス亢進が apicalextrusion に寄与しているかどうかを解析した。エンドサイトーシスの阻害剤や、Rab5 のドミナントネガティブ変異体を用いて検証した結果、エンドサイトーシス経路、特に Ras 変異細胞の発現する Rab5 の機能が apicalextrusion に重要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに、ゼブラフィッシュ初期胚の上皮細胞層における Src 変異細胞の排除においても、変異細胞の Rab5 の機能が重要な役割を果たしていることを明らかにした。
第 3 章では Rab5 の下流および上流で機能する分子を探索した。当研究室で以前に、E-cadherin や α-catenin と複合体を形成するアクチン結合タンパク質である EPLIN が、正常細胞に囲まれた Ras 変異細胞内で集積し apical extrusion を制御する分子であることを報告している。この EPLIN 経路への Rab5 の関与を検討したところ、Rab5 活性に依存して EPLIN が集積し、apical extrusion に寄与していることが判明した。興味深いことに、正常細胞に囲まれた Ras 変異細胞において peroxisome で機能する Catalase が、Rab5 および EPLIN に依存して集積していることが明らかになった。
さらに、正常細胞に囲まれた Ras 変異細胞で亢進したエンドサイトーシスが何を取り込んでいるのかを探索したところ、細胞間接着タンパク質である E-cadherin が Ras 変異細胞内で集積していたエンドソームと一部共局在していた。Rab5 の機能を抑えた Ras 変異細胞では E-cadherin の取り込みが抑制されていたことから、Ras 変異細胞のエンドサイトーシス亢進は、apical extrusion においては細胞間接着の局在を変えることにより変異細胞の移動を促している可能性が考えられる。Ras 変異細胞のエンドサイトーシス亢進は、正常細胞の持つ、どの分子を介して引き起こされているのか検証したところ、Ras 変異細胞が、変異細胞を押し出すタンパク質（細胞骨格タンパク質・Filamin）をノックダウンした正常細胞に囲まれたとき、Rab5 の集積が有意に減少していた。このことから Ras 変異細胞の Rab5 集積は、隣接する正常細胞の Filamin を介した相互作用により引き起こされていることが示唆された。
第 4 章では本論文の総括を述べている。
以上の結果から、正常細胞に囲まれると正常細胞側から Filamin および E-cadherin を介した相互作用を受けることにより、Ras 変異細胞内の Rab5・エンドサイトーシス経路が活性化し、EPLIN や細胞内 E-cadherin の集積を介して apical extrusion が促進されることを明らかにした。本研究の進展により、がん細胞の周りの正常細胞を利用してがんを攻撃および可視化する、新たながんの予防・治療・診断法の開発への発展が期待される。
よって、著者は北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。