

【目的】 上皮間葉転換は、上皮細胞が固有の特徴（上皮細胞特性）を失い、間葉細胞の性質を示す現象である。上皮間葉転換は、上皮細胞から発生した癌細胞が、運動性の高い間葉細胞の表現型を獲得し、浸潤・転移することに寄与する。また、臓器管腔の内面を覆う上皮細胞が上皮間葉転換により筋線維芽細胞へ変化し、過剰な細胞外基質を産生することや、上皮間葉転換を起こした細胞が組織常在性の線維芽細胞を活性化することは臓器の線維化につながる。以上のように上皮間葉転換は浸潤癌や臓器線維症の発症や悪化に関わるため、上皮間葉転換の分子機序を理解し、その制御を行うことは、浸潤癌や臓器線維症に対する治療戦略の開発に繋がる重要な課題である。これまでに、上皮間葉転換の制御におけるタンパク質の役割については多くの知見が蓄積されている。一方で、上皮間葉転換の制御において細胞膜脂質の果たす役割についての知見は乏しい。我々は、細胞膜脂質であるホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 (PI(4,5)P₂) が上皮細胞特性や上皮間葉転換を制御することを示唆する知見を得ていた。そこで、PI(4,5)P₂ が上皮細胞特性を制御する機構を解明するとともに、PI(4,5)P₂ やその下流シグナル、PI(4,5)P₂ 分解酵素を標的とした上皮間葉転換阻害の可能性を探り、上皮間葉転換関連疾患の抑制へと繋がる基盤的知見を得ることを本研究の目的とした。

【方法】 上皮細胞内において PI(4,5)P₂ に近接するタンパク質の網羅的な探索を、PI(4,5)P₂ に特異的に結合する PLC δ 1 の PH ドメインと近接依存性ビオチン標識法を用いて実施した。また、PI(4,5)P₂ の 5 位のリン酸基を脱リン酸化するホスファターゼである INPP5E の酵素活性ドメインに形質膜標的化 Lyn ミリスチル化配列と GFP を付加したもの (Lyn-INPP5E-GFP) をヒト表皮細胞株に安定発現させることにより形質膜の PI(4,5)P₂ を減少させ、免疫蛍光染色による PARD3 の検出を行った。さらに、ヒト骨肉腫細胞株に GFP と融合させた PI(4,5)P₂ 合成酵素 PIP5K を安定発現させることにより形質膜の PI(4,5)P₂ を増加させ PARD3 の検出を行った。PARD3 の exocyst 結合領域を形質膜に安定的に発現するヒト表皮細胞株を作製し、その細胞に Lyn-INPP5E-GFP を発現させ、免疫蛍光染色による細胞間接着タンパク質の検出も行った。

【結果】 PI(4,5)P₂ が上皮特性を調節するメカニズムを明らかにするために、上皮細胞内において PI(4,5)P₂ に近接するタンパク質の網羅的な探索を実施したところ、上皮細胞の特徴である細胞間接着に関連するタンパク質が多く同定されてきた。またエキソサイトーシス制御に関わるタンパク質も得られてきた。PI(4,5)P₂ による上皮細胞特性制御機構を解明するにあたり、PI(4,5)P₂ 結合タンパク質である PARD3 に着目し解析を行ったところ、PI(4,5)P₂ は形質膜の PARD3 の量を制御することが強く示唆された。また、PARD3 の exocyst 結合領域を形質膜に発現させることにより、PI(4,5)P₂ の減少による上皮細胞特性の喪失を抑制できることが示唆された。

PI(4,5)P₂ による上皮細胞特性制御機構の仮説モデル