

## 綜 説

## カドヘリンファミリーの多様性

佐野 健 司

信州大学医学部第2 病理学教室

## Diversity of Cadherin Family

Kenji SANO

Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine

**Key words :** cadherin, catenin, oncogenesis, organogenesis

カドヘリン, カテニン, 腫瘍形成, 器官発生

## はじめに

カドヘリンはカルシウムイオン依存性の細胞-細胞接着分子として、様々な細胞の膜表面に存在している糖蛋白である<sup>1)</sup>。

生体内に存在する種々の細胞は、有機的な結合をもって器官や個体を形成している。機械的にばらばらにした胎児細胞は、再結合して完全な胎児成分を再構築する。このような事実から、以前より個々の細胞には、同種、異種を認識し器官を形成する能力が存在することが予想されていた。カドヘリンは同種選択的接着能を有するとされており、このような特異的接着能により、細胞の発生や分化、細胞の極性の形成、神経軸索の発生と誘導、さらに腫瘍の転移など様々な細胞生物現象に関係している<sup>1)</sup>。カドヘリン研究の初期には、N(神経)型、E(上皮)型、P(胎盤)型がよく研究されていた<sup>2-4)</sup>。しかし、これ以外にもこれらに対する特異抗体に反応しないことから、数多くのカドヘリンが存在することが予想されていた。事実、トリヤアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)、ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) などからの新しいカドヘリン、またはカドヘリン様分子の報告が相ついでいる<sup>5-7)</sup>。我々はラットまたはヒトから、PCR法を使っ

て新しいカドヘリンの発見を試みた。その結果、今まで報告のない複数個のカドヘリン分子とカドヘリン様の分子が得られた<sup>8)9)</sup>。カドヘリンはその多様な分子群の存在が明確になり、カドヘリンファミリーの概念が定着しつつある。本稿では、カドヘリンの構造的分類と機能(特に癌及び器官形成との関係)をまとめた。

## I カドヘリンは共通した構造を有している

カドヘリンはカルシウムイオン要求性の細胞間の接着分子で、その接着機構は同種接着性とされている。つまりカドヘリンはレセプターと同時にリガンドとして働いており、N型のカドヘリンはN型とのみ結合すると考えられている。L細胞(マウスの線維芽細胞に由来する細胞株)などのカドヘリン活性のない細胞にカドヘリンのcDNAを導入し発現させてやると、L細胞はカルシウムイオン依存性の接着活性を獲得するようになる。そしてこの活性は特異抗体によって阻害され細胞は再びバラバラになる。このように、カドヘリンは細胞相互の接着にとって重要な役割を担っている<sup>1)</sup>。

我々の報告以前に分子レベルで同定されていたカドヘリンとして、N型、E型(uvomorulin)、P型カドヘリンがある<sup>2-4)</sup>。Fig. 1に示すように、これら既知のカドヘリンに共通する基本構造として次のような特徴が上げられる。細胞膜を1回貫通し、アミノ末端側が

別刷請求先: 佐野 健司

〒390 松本市旭3-1-1 信州大学医学部第2 病理

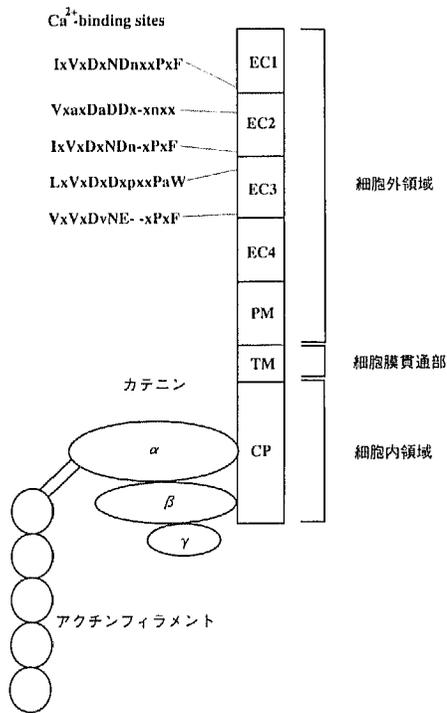


Fig. 1 カドヘリンの基本構造

細胞外領域は4回ないし5回(ただし、EC5は相同性がやや低く、システインを多く含むため premembrane domain として repeat に含めない研究者もいる。)の繰り返し構造を呈し、陰性荷電の amino 酸のクラスターからなるカルシウム結合部位を認める。さらに細胞膜を1回貫通し、細胞内ドメインに続く。細胞内ドメインはカテニンと呼ばれる3種の膜裏打ち蛋白を介して、アクチンに結合する。EC: Extracellular domain, PM: Premembrane domain TM: Transmembrane domain, CP: Cytoplasmic domain

細胞外ドメイン、より短い細胞内ドメインがカルボキシル末端側に相当する。細胞外ドメインは特異なアミノ酸配列が4ないし5回繰り返される。研究者によっては相同性のやや低い5番目のリピートを、premembrane domain (PM) としてリピートに加えないこともある。各リピートは保存性の高いアミノ酸配列、DXD, DXNDN (D=Aspartic acid, N=Asparagine, X=種々) などの、陰性荷電の amino 酸のクラスターが存在し、カルシウム結合部位と予想されている。一方、細胞内ドメインは非常によく保存されている。各カドヘリン間では、アミノ末端側の最初の2つのリピート (EC1 と EC2) の相同性が高く、細胞膜に近づくにつれて相同性が低下し、EC5 (PM) が最も低い<sup>2)</sup>。EC1 に存在する HAV (Histidine-Alanine-Valine) とその近傍のアミノ酸配列が、結合特異性に関係することが分子キメラの実験により示されているが<sup>10)</sup>、最近クローニングされたカドヘリン分子では、HAV は保存されていないものが多い<sup>11)</sup>。

カドヘリンの細胞内ドメインは、3種類の細胞質内蛋白との結合を介しアクチンフィラメントと連結している。その結果、細胞接着の安定化を計るとともに、種々の情報を細胞質内に送っているものと予想される<sup>11)2)</sup>。この3種類の蛋白はα、β、γ-カテニンと呼ばれ、α-カテニンはビンキュリンと相同性を有する3つの領域とそれに挟まれた2つの領域からなる<sup>13)</sup>。β-カテニンは中央部に12回半の繰り返し構造を持ち、ブラयोगロビンと高い相同性を示す<sup>14)</sup>。γ-カテニンはブラयोगロビンそのものと考えられている<sup>15)</sup>。

## II 混合プライマーを使った PCR で新しいカドヘリン分子がクローニングされた

N, E, P 型のカドヘリンのアミノ酸配列をもとに、

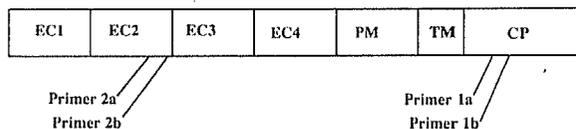


Fig. 2 PCR による新しいカドヘリンのクローニング戦略

相同性の高い部分(細胞質内領域及び細胞外領域の保存された領域)にそれぞれ既存のアミノ酸を全て網羅するような混合プライマーを合成し、適当な template に対して増幅を行う(詳しくは文献8, 9)。予想される大きさの PCR product をシーケンスしてカドヘリンか否かを認識する。カドヘリンの構造を有し、しかも未知のシーケンスであればこれをプローブとしてライブラリーをスクリーニングする。

カドヘリンファミリーの多様性

よく保存されている部分を細胞内と細胞外からそれぞれ一対ずつ選び、それぞれにつきすべての配列を網羅する混合プライマーを合成した (Fig. 2, primer 1a-1b, primer 2a-2b, 詳しくは文献8)9))。つぎに各種ラットの cDNA を template として PCR (Polymerase Chain Reaction) を行った。PCR によって増幅された DNA を、電気泳動によって目的の大きさのものだけを抽出し、M13ベクターにサブクローニングした。組み込まれた PCR 産物の塩基配列を決定したところ、脳と網膜から既知のカドヘリン (N, E, P) に対応するクローン (#1-3) 以外に、少なくとも10種類のクローンが未知のカドヘリンとして (既知のカドヘリンに類似した構造を有するが、一部異なったアミノ酸配列を示す) 同定された (クローン#4-13)<sup>9)</sup>。ヒトの各種組織 cDNA を用いて同様の実験を行ったところ、やはり神経系から得た cDNA から、ラットで得られたクローンの異種間相同分子と思われるクローンを得た。

PCR で得られた新しいカドヘリンに相当すると考

えられた cDNA をプローブとして、ヒトの脳または胎盤の cDNA ライブラリーをスクリーニングした。得られたクローンの塩基配列を決定したところ、現在までに6種類の新しいカドヘリン分子が得られた。このうち細胞内ドメインを欠く#13のクローンを例外として、いずれもカドヘリンとしての基本構造を備えていた<sup>9)11)</sup>。

一方、細胞外のドメインに由来する PCR 産物を、同様にして塩基配列を決定したところ、やはりカドヘリンによく類似したクローンが十数種得られた。このうちヒトの脳の cDNA ライブラリーから、2種類の全長を含むカドヘリン様分子を得た。その分子構造は細胞外ドメインの各リピートの構造は類似しているが、既知のカドヘリンよりリピートの数が多く、細胞内のアミノ酸配列が全く異なっていた。同様の性質を持つクローンはマウスやヒトの脳のみではなく、アフリカツメガエルの脳、さらにシヨウジョウバエや線虫 (*C. elegans*) にも広く分布していることが予想された。脊椎動物から無脊椎動物までの各種生物に共通で、種を

Tabel 1 カドヘリンファミリー

| カドヘリン分子             | 生体での機能  |
|---------------------|---|
| A. 古典的カドヘリン         |   |
| Type 1              |   |
| E-カドヘリン             | 癌抑制   |
| N-カドヘリン             | 神経形成  |
| P-カドヘリン             | 形態形成  |
| R-カドヘリン (#4)        | 神経 (網膜) 形成  |
| M-カドヘリン             | 筋肉形成  |
| デスマコリン              |   |
| Type 2              |   |
| V-カドヘリン (#5)        | 血管透過性   |
| K-カドヘリン (#6)        | 腎形成   |
| OB-カドヘリン (#11)      | 形態形成  |
| 短鎖性カドヘリン            |   |
| B. T-カドヘリン (#13)    | 体節形成  |
| H-カドヘリン             | 癌抑制   |
| C. LI-カドヘリン/HPT-1   | ペプチド吸収  |
| Ksp-カドヘリン           | Na <sup>+</sup> /HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 輸送 |
| デスマゾーム性カドヘリン        | デスマゾーム形成  |
| D. デスマグレイン          |   |
| E. デスマコリン           |   |
| F. プロトカドヘリン         | 神経形成?   |
| G. c-Ret カドヘリンファミリー | 形態形成,<br>チロシンキナーゼ癌遺伝子                             |

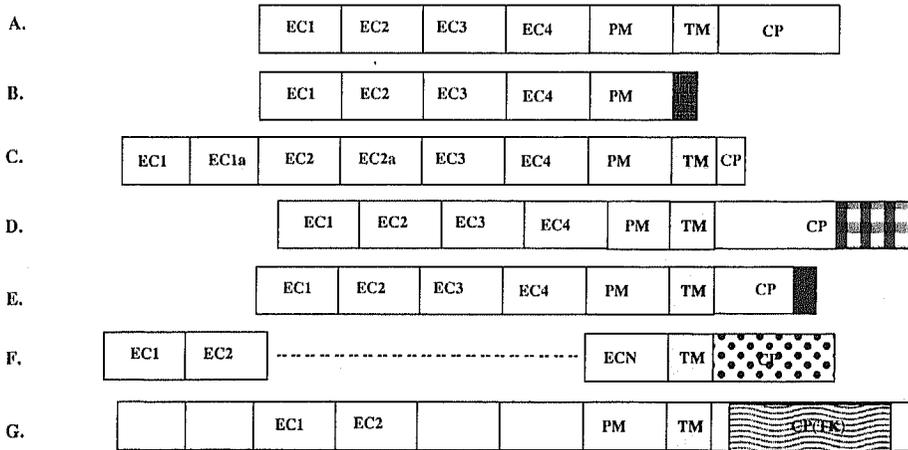


Fig. 3 カドヘリンファミリーの構造的比較

古典的カドヘリンを原型として細胞外ドメインの繰り返し構造の数や細胞内ドメインの構造の違いで分けられる。A~GはTable 1のA~Gに相当する。

問わない基本的な構造を有することが推測されるため、我々は現在このカドヘリン様分子をプロトカドヘリンと呼んでいる<sup>9)</sup>。

### III カドヘリンは構造的に分類される

近年報告されつつある新しいカドヘリンは、E型、N型、P型の他に、由来組織名にちなみ、R(網膜)型<sup>10)</sup>、B(脳)型<sup>9)</sup>、V(血管)型<sup>9)17)</sup>、M(筋肉)型<sup>18)</sup>、K(腎臓)型<sup>19)</sup>、OB(骨芽)型<sup>20)</sup>などがある。このようなカドヘリン基本構造を有する分子として、上記のカドヘリン以外に我々のクローニングしたカドヘリン#4、5、6、8、11、12がある。このうち#5は血管内皮細胞に発現されていることより、V-カドヘリンに相当する分子であろうと推測されている<sup>17)</sup>。また、#4はN型に相同性が高く、Takeichiらの報告したトリのR-カドヘリンに相当する異種間相同分子であると予想されている<sup>11)16)</sup>。#6はK型、#11はOB型に相当する<sup>11)19)20)</sup>。

カドヘリンの命名はその発現している組織由来が多い。必ずしも特異的な発現とは限らないことや、神経系から由来するカドヘリンが多いことなどより、アルファベットのみによる命名では混乱を招きやすい。しかし数字のみの分類も無味乾燥である。機能的に分類されるのが最も合理性が高いと思われるが、現在のところ機能が不明な分子も多いので、とりあえず構造的に分類しておくのが整理の都合が良い (Table 1, Fig. 3)。

#### A 古典的カドヘリン

いままでのカドヘリンのアミノ酸配列を比較検討すると、いずれもカドヘリンリピートを持ちながら、若干の差異が認められることがわかった。すなわち、N型、E型、P型、B型、R型(#4)、M型、EP型などのカドヘリンは互いに相同性も高く、特徴的な芳香族アミノ酸が保存されている。ところが、カドヘリン#5-12は他のカドヘリンと比較すると相対的に相同性が低く、芳香族アミノ酸や数個のアミノ酸の欠落や挿入が認められる。従って、我々は古典的カドヘリンファミリーは2つに大別できるものと考えている。前者を1型、後者を2型カドヘリンとしている<sup>11)</sup>。

カドヘリンリピートを有するが、構造的または機能的に古典的カドヘリンとは異なった性質を有するものとして、以下の分子がある。

#### B 短鎖性カドヘリン

##### 1 T-カドヘリンとH-カドヘリン

RanschtとDours-Zimmermann<sup>21)</sup>は、カドヘリンリピートを有するのに、細胞内ドメインを欠失し、glycosyl phosphatidylinositol (GPI) アンカーにより細胞膜に連結しているカドヘリンを、T(truncated)-カドヘリンと命名した。我々がクローニングしたカドヘリン#13は細胞内ドメインがなく、T-カドヘリンと極めて高い相同性を示すことより、トリとヒトの異種間相同分子と考えられる<sup>11)</sup>。T-カドヘリンは体節の各sclerotome(椎板)の尾側半分が発現しており、頭側半分を移動するneural crest cell(神経提細胞)

に影響を及ぼしたり、体節の極性を維持するなどの機能が示唆されている<sup>22)</sup>。これと構造上類似しているものが、H-カドヘリンである。正常乳腺上皮細胞に発現し、乳癌細胞株に発現しないクローンを subtraction cloning でつり上げた。In vitro で、細胞増殖に抑制的に働くことやH-カドヘリンは染色体の16q24にマッピングされ、同部の loss of heterozygosity (LOH) がしばしば非家族性乳癌に観察されることから、癌抑制遺伝子である可能性が示唆された<sup>23)</sup>。

## 2 LI-カドヘリン/HPT-1ファミリー

この群に属するカドヘリンは、細胞外ドメインが古典的カドヘリンよりもやや長い。アミノ末端側にカドヘリンリピートとしての性質がやや異なる EC1a, EC2a が付いているためである。EC1a は保存性が低く、陰性荷電のアミノ酸のクラスターが欠失している。一方、細胞内ドメインは非常に短い、古典的カドヘリンと類似した配列がみられる。ペプチド系薬剤の取り込みをブロックする抗体を使ってクローニングし、遺伝子導入実験でLI-カドヘリン遺伝子を導入した細胞が同薬剤の取り込み能を獲得したことより、このカドヘリンは腸管粘膜のペプチド吸収に関係があると考えられている<sup>24)25)</sup>。

一方、構造的にこの群に属するが、発現部位の異なる Ksp-カドヘリンがある。細胞外ドメインのリピートの数や、細胞質内ドメインの長さやアミノ酸の保存性などLI-カドヘリン/HPT-1に非常によく似ている。腎臓尿細管上皮の細胞膜に局限して発現していることから、 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  の輸送因子として働く可能性が示唆されている<sup>26)</sup>。

## C デスモゾーム性カドヘリン

上皮細胞のみならず、心筋細胞やグリア細胞に存在するデスモゾームに特異的に発現する分子であるデスモグレインとデスモコリンは、カドヘリン様分子である。デスモグレインは細胞外ドメインは保存されているが、膜貫通部近くのPMに相当するところが短く、カドヘリン類似の細胞内ドメインに続いて、KochとFranke<sup>27)</sup>の言うところのIPL (intercellular proline-rich linker)、約29個のアミノ酸から成るRUD (repeating unit domain)、DTD (desmoglein-specific terminal domain) の各ドメインがある。

一方、デスモコリンの細胞外ドメインもカドヘリンリピートを有するが、細胞内ドメインはやや短く、カルボキシル末端は特異なアミノ酸配列を示すものと、古典的カドヘリンとほぼ同じ大きさのものの2種類が、

同一遺伝子から alternative splicing で作られる<sup>28)-30)</sup>。興味深いことに、デスモコリンは古典的カドヘリンとの相同性はそれほど高くないが、構造的には type1 に属する<sup>11)</sup>。水疱性皮膚疾患の1つである尋常性天疱瘡は、表皮細胞のデスモゾームに存在する desmoglein-3 に対する自己抗体がデスモゾームの構造を破壊し、表皮細胞相互の接着性が失われることによって水疱が形成される<sup>31)</sup>。これに対して、棘融解が表皮上層にみられる葉状性天疱瘡は desmoglein-1 に対する自己抗体によって引き起こされると考えられている<sup>32)</sup>。また疾患との関連性は確立されていないが、デスモコリンの抗体によってもデスモゾーム形成は阻害される<sup>33)</sup>。従って、デスモコリン、デスモグレインはともにデスモゾーム形成に必須のカドヘリン蛋白と考えられる。

## D プロトカドヘリンと fat gene

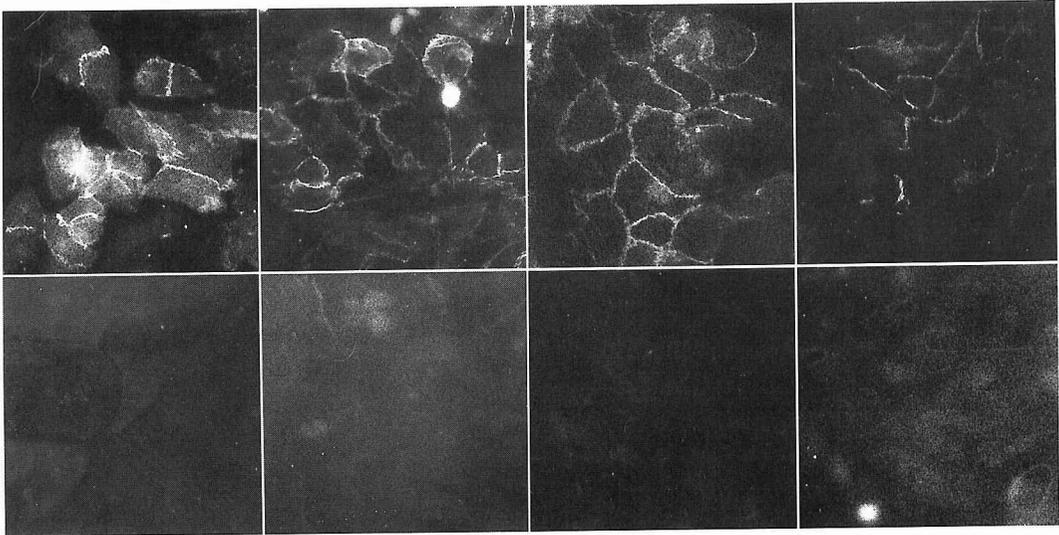
最近、Mahoneyらはショウジョウバエよりカドヘリン構造を有する新しい分子を発見した。これは、ショウジョウバエの癌抑制遺伝子の1つである fat gene と同一であることが判明した<sup>9)</sup>。

この分子は細胞外のカドヘリンリピートが34回も繰り返す巨大分子で、細胞内ドメインはカドヘリンのものとは全く異なっている。我々も最近、同様の分子を高等動物より多数分離することに成功した<sup>9)</sup>。この分子は fat 同様シグナル配列を欠き、カドヘリンリピートが6回または7回続く。細胞内ドメインは他のカドヘリンや既知の蛋白との相同性を欠く。興味深いことに、この分子の各リピートは長さや保存性の高いアミノ酸の位置などが、古典的カドヘリンのものと比較してさらに非常によく類似しており、古典的カドヘリンの EC3 末端にみられる NE-NPYF (N=Asparagine, E=Glutamic acid, P=Proline, Y=Tyrosine, F=Phenylalanine, -は deletion) の構造が消失し、最後のリピート以外すべてNDNAPXF (A=Alanine, X=種々) というアミノ酸配列を示す。この点でプロトカドヘリンのリピートは fat のものとよく似ている。プロトカドヘリンの生理機能ははっきりしていないが、主に神経系に発現していて発生的に調節を受けていることより、神経系の組織構築に何らかの役割を演じているものと思われる<sup>9)</sup>。

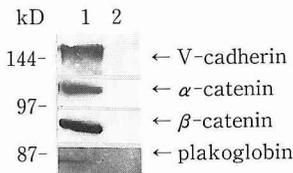
## E c-Ret

レセプターチロシンキナーゼをコードするプロトオンコジーンであり、全体の構造は大きく異なっているが、カドヘリンに類似した構造を一部に有している。細胞外ドメインの EC1, EC2 に共通のアミノ酸配列が

A



B



A

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 1a | 1b | 1c | 1d |
| 2a | 2b | 2c | 2d |

Fig. 4 培養細胞 CHO へのV-カドヘリンの transfection

- A: V-カドヘリンを持たないCHO細胞に全長のV-カドヘリン遺伝子を導入してやると、V-カドヘリンの発現とともに(1a)、α-カテニン(1b)、β-カテニン(1c)、γ-カテニン(1d)が細胞接着面に発現してくる。ベクターのみを導入したコントロールのCHOのV-カドヘリン(2a)、α-カテニン(2b)、β-カテニン(2c)、γ-カテニン(2d)の蛍光抗体染色。
- B: 同じ細胞をW-カドヘリンで免疫沈降し、各抗体でイムノプロットするtransfectant(CHO/V-cad)はα、β、γ-カテニンを共沈する(1)が、コントロール細胞(CHO/PRC/RSV)では共沈がみられない(2)。

ある他、細胞外ドメインの数カ所にCa<sup>2+</sup> binding siteと予想される陰性荷電のクラスターが認められる。また膜貫通部近くのPMにシステインが豊富であることや、細胞外ドメインが同じくらいの大きさのrepeating unitからなっていることなどが類似する<sup>34)</sup>。現在までのところligandは解っておらず、Src 癌化細胞(チロシンキナーゼ型オンコジーンSrcでトランスフォームした細胞)のカドヘリン-カテニン複合体や、ショウジョウバエのDtrkと同様に同種接着と同時にc-Retのチロシンキナーゼが活性化される可能性がある<sup>35)36)</sup>。

機能としてはc-Ret欠失マウスの解析により、泌尿器や腸管神経系の発達に関与している他<sup>37)</sup>、甲状腺髄様癌、多発性内分泌腫瘍症(MEN type2)の腫瘍発生

に強く関係していることが示唆されている<sup>38)</sup>。

#### IV カドヘリンは癌の浸潤と転移に関与している

カドヘリンの機能は個々のカドヘリンによって異なることが予想されるが、癌、特に浸潤と転移および器官形成との関係で捉えられている。接着性の消失や減弱は癌細胞の基本的な性格である。生物学的悪性という意味は、腫瘍細胞が宿主の制御を失って自律性を獲得し、局所浸潤を示し、さらに転移能を有しているということであるが、接着分子の有無はこれらの性質と深い関係を有している。たとえば、肝癌や胃癌で免疫組織学的にE-カドヘリンの発現低下と分化度の低下が相関し、癌の浸潤との関連性が指摘された<sup>39)-41)</sup>。

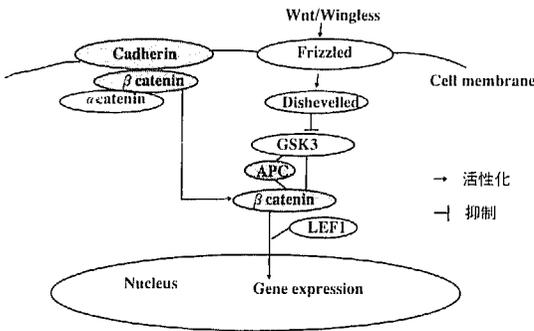


Fig. 5 Cadherin と Wnt pathway の関係  
(文献55より改変)  
網掛けの分子は癌抑制蛋白

*In vitro* でも、E-カドヘリン陰性の培養腫瘍細胞に cDNA を導入して E-カドヘリンを発現させると、腫瘍の浸潤性が低下するが、この細胞を E-カドヘリン抗体やアンチセンス DNA で処理すると浸潤性が回復する<sup>42)43)</sup>。さらに、胃癌組織や胃癌由来の培養細胞では E-カドヘリンが高率に変異していることも知られる<sup>44)45)</sup>。最近の研究では、癌細胞株で E-カドヘリンのプロモーター領域が CpG メチル化によって、E-カドヘリンが正常に発現されていないことも明らかにされた<sup>46)</sup>。従って、E-カドヘリンが正常に発現されないと、腫瘍細胞の接着性が減少し、腫瘍細胞は個々ばらばらになって浸潤、転移し易くなる。

一方、細胞接着性が失われカドヘリン機能が働いていないと考えられる scattered type の胃未分化癌の中には、E-カドヘリンを強く発現する症例がある。こうした細胞では  $\alpha$  または  $\beta$ -カテニンの変異が見つかっており<sup>47)48)</sup>、カドヘリンの機能が正常に働いて接着能が維持されるためには、カテニンが機能していなければならない<sup>49)50)</sup> (Fig. 4)。

Src 癌化細胞ではカドヘリンの発現量に変化せず、カテニンのリン酸化の増強とともに接着性が低下する。この細胞にチロシンキナーゼ阻害剤を加えると、接着性が増大する<sup>51)52)</sup>。このリン酸化には EGFR や c-erbB-2 などの、受容体型チロシンキナーゼが関与している可能性がある<sup>53)54)</sup>。ヒト癌細胞では、E-カドヘリンやカテニンの発現異常や遺伝子異常、あるいはチロシンリン酸化といった機序により、E-カドヘリンの癌浸潤抑制系が阻害されている。

近年、 $\beta$ -カテニンはオンコプロテインネットワークの1つである Wnt/Wingless 経路 (Wnt はマウス

乳癌ウイルスの挿入によって発現が増強し癌を引き起こす遺伝子で、ショウジョウバエの体節形成に関与する Wingless と相同分子) のメンバーであることが解ってきた<sup>55)</sup>。カドヘリンを介した細胞内情報伝達では、フリーの  $\beta$ -カテニンの量を調節しているようである<sup>56)</sup>。これによって、Wnt receptor と共通の情報伝達系に寄与する<sup>56)57)</sup>。正常細胞では、adenomatous polyposis coli gene product (APC) が  $\beta, \gamma$ -カテニンと結合することで、 $\beta$ -カテニンは速やかに分解され細胞内では低レベルに抑えられている<sup>58)</sup>。ところが、大腸癌でしばしば観察される APC の変異が生ずると、APC は  $\beta$ -カテニンと結合できず、フリーの  $\beta$ -カテニンが細胞内に蓄積される。そしてフリーの  $\beta$ -カテニンは核内に移行し、転写因子と結合することによって特定の蛋白 (細胞の増殖、分化に関与する TGF- $\beta$  ファミリー、サイトカインなどの蛋白が予想されている) の転写を促進する<sup>59)60)</sup> (Fig. 5)。カドヘリン及び  $\beta$ -カテニンはともに、癌抑制蛋白として働いており、一方または両方が機能を失うと腫瘍細胞の接着性を低下させ、Wnt 経路を活性化させる。

## V カドヘリンは器官形成に関係がある

カドヘリンは器官形成に強く関わっている。正常の器官が形成されるためには、同種の細胞群が集合して機能単位が作られる必要があり、このことはカドヘリンの同種接着性という基本的機能と合致する。

器官形成にどのカドヘリンが関係するかは、カドヘリンの組織分布と相関すると思われるが、1つの臓器に必ずしも1つのカドヘリンが関係しているわけではない。むしろ複数のカドヘリンが時間的空間的に異なって発現することが普通である。

たとえば、胎生期の神経管が形成され、上方に覆っている外胚葉から分離する時期では、神経管は E-カドヘリンの発現を失い、N-カドヘリンを獲得する。一方、背側に位置する外胚葉は E-カドヘリンを発現し続ける。末梢神経などに分化する神経提細胞は、神経管と共存しているときは N-カドヘリンを強く発現するが、適当な場所に移動中は N-カドヘリンを失い、移動し終わって再集合が起ると再び N-カドヘリンを発現する。このように3つの細胞群は同じ外胚葉から発生しているが、その分化の過程で異なったカドヘリンの発現が起きている。カドヘリンが適当な時期に適当に発現したり、しなかったりすることで正常な細胞の分離が生ずる<sup>1)61)</sup>。

このような胎生期の神経発生に対するN-カドヘリンの機能を示唆する実験として、次のようなモデルがある。アフリカツメガエル妊卵にN-カドヘリンのmRNAを注入してやると、種々の部位で内因性のN-カドヘリンとのモザイクになって発現する。そして、発現部位の器官形成が正常に起きないことが観察されている<sup>62)63)</sup>。またトリ妊卵ではN-カドヘリンやN-CAM抗体によって、神経管や神経提の発生に異常を生ずる現象が認められる<sup>64)</sup>。またR-カドヘリンは胎生期の網膜や脳の発現が、N-カドヘリンとは異なった時期に異なった部位に発現しており、R-カドヘリンとN-カドヘリンの神経や網膜の形態形成への関与が示唆されている<sup>16)65)</sup>。さらにアフリカツメガエル妊卵のカドヘリンを過剰発現させたり、 $\beta$ -カテニンの発現を抑制すると背側中胚葉からの誘導が阻害され、神経管や神経提の発生に強い影響がみられる<sup>66)</sup>。器官形成においても、 $\beta$ -カテニンの形態形成への関与はFig. 5に図示したWnt経路と考えられている<sup>69)</sup>。体節の形成については、T-カドヘリンとN-カドヘリンの免疫組織学的な相補的発現より、両カドヘリンが体節の極性形成に関与しているとされる<sup>22)</sup>。またカドヘリン-11(OB-カドヘリン)のmRNAの分布より同カドヘリンが体節や、頭部、四肢の間葉系組織の発生に関係があると言われる<sup>67)</sup>。しかし、神経系については発現分布からみたカドヘリンの関与はN, E, R, B, T-カドヘリンの他に、カドヘリン-5~11まで多種類にわたっており<sup>68)</sup>、各カドヘリンがどのような形で形態形成に関与しているかは不明な点が多い。

神経組織以外でも胎生期の発現パターンから、カドヘリンと器官形成を関係づけているものが多い。たとえば、M-カドヘリンでは胎生期の発現パターンから筋肉組織の発生、分化との関係を推論されている<sup>18)</sup>。またK-カドヘリンが胎生期のnephrogenic epithelial cellに局在していることから、腎糸球体の極性形成に関与しているものと考えられている<sup>19)</sup>。

### 最 後 に

カドヘリン分子と一口に言ってもその中身は実に多様である。同種細胞接着という基本的機能は変化しないまでも生体内での機能は種々であり、まだ不明な分子も多い。今後各カドヘリンについてさらに機能解析が進むものと思われる。

細胞内関連蛋白については、古典的カドヘリンは3種のカテニンがアクチンフィラメントと結合するが、デスマゾーム性カドヘリンはデスマブラキン、ブラコグロビンを介して、intermediate filamentと結合しているというように違いがある。その他、短鎖性カドヘリンやプロトカドヘリンについては現在のところ不明であり、今後の検討が待たれる。

腫瘍発生や器官形成ともに $\beta$ -カテニンを介したWnt/Wingless経路が重要な役割を担っているようである。その際にカドヘリンとカテニンのリン酸化が細胞内情報伝達の上でkey eventと考えられる。近い将来、リン酸化に関与する蛋白やその経路が明らかにされていくはずである。

### 文 献

- 1) Takeichi M: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 251: 1451-1455, 1991
- 2) Hatta K, Nose A, Nagafuchi A, Takeichi M: Cloning and expression of cDNA encoding a neural calcium-dependent cell adhesion molecule: its identity in the cadherin gene family. *J Cell Biol* 106: 873-881, 1988
- 3) Damsky CH, Richa J, Solter D, Knudsen K, Buck CA: Identification and purification of a cell surface glycoprotein mediating intercellular adhesion in embryonic and adult tissue. *Cell* 34: 455-466, 1983
- 4) Nose A, Nagafuchi A, Takeichi M: Isolation of placental cadherin cDNA: identification of a novel gene family of cell-cell adhesion molecules. *EMBO J* 6: 3655-3661, 1987
- 5) Mahoney PA, Weber U, Onofrechuk P, Biessmann H, Bryant PJ, Goodman CS: The *fat* tumor suppressor gene in *Drosophila* encodes a novel member of the cadherin gene superfamily. *Cell* 67: 853-868, 1991
- 6) Napolitano EW, Venstrom K, Wheeler EF, Reichardt LF: Molecular cloning and characterization of B cadherin, a novel chick cadherin. *J Cell Biol* 113: 893-905, 1991
- 7) Ginsberg D, DeSimone D, Geiger B: Expression of a novel cadherin (EP-cadherin) in unfertilized eggs and early *Xenopus* embryos. *Development* 111: 315-325, 1991

- 8) Suzuki S, Sano K, Tanihara H: Diversity of the cadherin family : evidence of eight new cadherins in nervous tissue. *Cell Regul* 2 : 261-270, 1991
- 9) Sano K, Tanihara H, Heimark RL, Obata S, Davidson M, St. John T, Taketani S, Suzuki S: Protocadherins : a large family of cadherin-related molecules in central nervous system. *EMBO J* 12 : 2249-2256, 1993
- 10) Nose A, Tsuji K, Takeichi M: Localization of specificity determining sites in cadherin cell adhesion molecules. *Cell* 61 : 147-155, 1990
- 11) Tanihara H, Sano K, Heimark RL, St. John T, Suzuki S: Cloning of five human cadherins clarifies characteristic features of cadherin extracellular domain and provides further evidence for two structurally different types of cadherin. *Cell Adhes Commun* 2 : 15-26, 1994
- 12) Ozawa M, Baribault H, Kemler R: The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *EMBO J* 8 : 1711-1717, 1989
- 13) Nagafuchi A, Takeichi M, Tsukita S: The 102 kd cadherin-associated protein : similarity to vinculin and posttranscriptional regulation of expression. *Cell* 65 : 849-857, 1991
- 14) McCrea PD, Turck CW, Gumbiner B: A homolog of the *armadillo* protein in *Drosophila* (Plakoglobin) associated with E-cadherin. *Science* 254 : 1359-1361, 1991
- 15) Knudsen KA, Wheelock MJ: Plakoglobin, or an 83-kD homologue distinct from,  $\beta$ -catenin, interacts with E-cadherin and N-cadherin. *J Cell Biol* 118 : 671-679, 1992
- 16) Inuzuka H, Miyatani S, Takeichi M: R-cadherin : a novel  $Ca^{2+}$ -dependent cell-cell adhesion molecule expressed in the retina. *Neuron* 7 : 69-79, 1991
- 17) Lampugnani MG, Resnati M, Raiteri M, Pigott R, Pisacane A, Houen G, Roco LP, Dejana E: A novel endothelial-specific membrane protein is a marker of cell-cell contacts. *J Cell Biol* 118 : 1511-1522, 1992
- 18) Donalies M, Cramer M, Ringwald M, Starzinski-Powitz A: Expression of M-cadherin, a member of the cadherin multigene family, correlates with differentiation of skeletal muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 8024-8028, 1991
- 19) Xiang YY, Tanaka M, Suzuki M, Igarashi H, Kiyokawa E, Naito Y, Ohtawara Y, Shen Q, Sugimura H, Kino I: Isolation of complementary DNA encoding K-cadherin, a novel rat cadherin preferentially expressed in fetal kidney and kidney carcinoma. *Cancer Res* 54 : 3034-3041, 1994
- 20) Okazaki M, Takeshita S, Kawai S, Kikuno R, Tsujimura A, Kudo A, Amann E: Molecular cloning and characterization of OB-cadherin, a new member of cadherin family expressed in osteoblasts. *J Biol Chem* 269 : 12092-12098, 1994
- 21) Ranscht B, Dours-Zimmermann MT: T-cadherin, a novel cadherin cell adhesion molecule in the nervous system lacks the conserved cytoplasmic region. *Neuron* 7 : 391-402, 1991
- 22) Ranscht B, Bronner-Fraser M: T-cadherin expression alternates with migrating neural crest cells in the trunk of the avian embryo. *Development* 111 : 15-22, 1991
- 23) Lee SW: H-cadherin, a novel cadherin with growth inhibitory functions and diminished expression in human breast cancer. *Nature Med* 2 : 776-782, 1996
- 24) Berdorff D, Gessner R, Kreft B, Schnoy N, Lajous-Petter AM, Loch N, Reutter W, Hortsch M, Tauber R: Liver-intestine cadherin: molecular cloning and characterization of a novel  $Ca^{2+}$ -dependent cell adhesion molecule expressed in liver and intestine. *J Cell Biol* 125 : 1353-1369, 1994
- 25) Dantzig AH, Hoskins J, Tabas LB, Bright S, Shepard RL, Jenkins IL, Duckworth DC, Sportsman JR, Mackensen D, Rosteck JrPR, Skatrud PL: Association of intestinal peptide transport with a protein related to the cadherin superfamily. *Science* 264 : 430-433, 1994
- 26) Thomson RB, Igarashi P, Biemesderfer D, Kim R, Abu-Alfa A, Soleimani M, Aronson PS: Isolation and

- cDNA cloning of Ksp-cadherin, a novel kidney-specific member of the cadherin multigene family. *J Biol Chem* 270 : 17594-17601, 1995
- 27) Koch PJ, Franke WW : Desmosomal cadherins : another growing multigene family of the adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol* 6 : 682-687, 1994
  - 28) Collins JE, Legan PK, Kenny TP, MacGarvie J, Holton JL, Garrod DR : Cloning and sequence analysis of desmosomal glycoproteins 2 and 3 (desmocollins) : cadherin-like desmosomal adhesion molecules with heterogeneous cytoplasmic domains. *J Cell Biol* 113 : 381-391, 1991
  - 29) Mechanic S, Raynor K, Hill JE, Cowin P : Desmocollins form a distinct subset of the cadherin family of cell adhesion molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 4476-4480, 1991
  - 30) Parker AE, Wheeler GN, Arnemann J, Pidsley SC, Ataliotis P, Thomas CL, Rees DA, Magee AI, Buxton RS : Desmosomal glycoproteins II and III : cadherin-like junctional molecules generated by alternative splicing. *J Biol Chem* 266 : 10438-10445, 1991
  - 31) Amagai M, Klaus-Kovtun V, Stanley JR : Autoantibodies against a novel epithelial cadherin in pemphigus vulgaris, a disease of cell adhesion. *Cell* 67 : 869-877, 1991
  - 32) Rock B, Labib RS, Diaz LA : Monovalent Fab' immunoglobulin fragments from endemic pemphigus foliaceus autoantibodies reproduce the human disease in neonatal Balb/c mice. *J Clin Invest* 85 : 296-299, 1990
  - 33) Cowin P, Matthey D, Garrod D : Identification of desmosomal surface components(desmocollins) and inhibition of desmosome formation by specific Fab'. *J Cell Sci* 70 : 41-60, 1984
  - 34) Schneider R : The human protooncogene *ret* : a communicative cadherin? *Trends Biochem Sci* 17 : 468-469, 1992
  - 35) Matsuyoshi N, Hamaguchi M, Taniguchi S, Nagafuchi A, Tsukita S, Takeichi M : Cadherin-mediated cell-cell adhesion is perturbed by *v-src* tyrosine phosphorylation in metastatic fibroblasts. *J Cell Biol* 118 : 703-714, 1992
  - 36) Pulido D, Campuzano S, Koda T, Modolell J, Barbacid M : Dtrk, Drosophila gene related to the trk family of neurotrophin receptors, encodes a novel class of neural cell adhesion molecule. *EMBO J* 11 : 391-404, 1992
  - 37) Schuchardt A, D'Agati V, Larsson-Blomberg L, Costantini F, Pachnis V : RET-deficient mice : an animal model for Hirschsprung's disease and renal agenesis. *J Intern Med* 238 : 327-332, 1995
  - 38) van Heyningen V : One gene-four syndromes. *Nature* 367 : 319-320, 1994
  - 39) Shimoyama Y, Hirohashi S : Cadherin intercellular adhesion molecule in hepatocellular carcinomas : loss of E-cadherin expression on an undifferentiated carcinoma. *Cancer Lett* 57 : 131-135, 1991
  - 40) Shimoyama Y, Hirohashi S : Expression of E-and P-cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res* 51 : 2185-2192, 1991
  - 41) Takeichi M : Cadherins in cancer : implications for invasion and metastasis. *Curr Opin Cell Biol* 5 : 806-811, 1993
  - 42) Vlemingckx K, Vakaet L, Mareel M, Fiers W, van Roy F : Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. *Cell* 66 : 107-119, 1991
  - 43) Behrens J, Mareel MM, van Roy FM, Birchmeier W : Dissecting tumor cell invasion : epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion. *J Cell Biol* 108 : 2435-2447, 1989
  - 44) Oda T, Kanai Y, Oyama T, Yoshiura K, Shimoyama Y, Birchmeier W, Sugimura T, Hirohashi S : E-cadherin gene mutations in human gastric carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 1858-1862, 1994

- 45) Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarda H, Siewert JR, Hofer H: E cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Res* 54: 3845-3852, 1994
- 46) Yoshiura K, Kanai Y, Ochiai A, Shimoyama Y, Sugimura T, Hirohashi S: Silencing of the E-cadherin invasion-suppressor gene by CpG methylation in human carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 7416-7419, 1995
- 47) Shimoyama Y, Nagafuchi A, Fujita S, Gotoh M, Takeichi M, Tsukita S, Hirohashi S: Cadherin dysfunction in a human cancer cell line: possible involvement of loss of alpha-catenin expression in reduced cell-cell adhesiveness. *Cancer Res* 52: 5770-5774, 1992
- 48) Kawanishi J, Kato J, Sasaki K, Fujii S, Watanabe N, Niitsu Y: Loss of E-cadherin dependent cell-cell adhesion due to mutation of the  $\beta$ -catenin gene in a human cancer cell line, HSC-39. *Mol Cell Biol* 15: 1175-1181, 1995
- 49) Oyama T, Kanai Y, Ochiai A: A truncated  $\beta$ -catenin disrupts the interaction between E-cadherin and  $\alpha$ -catenin: A case of loss intercellular adhesiveness in human cancer cell lines. *Cancer Res* 54: 6282-6287, 1994
- 50) Hinck L, Nathke IS, Papkoff J, Nelson WJ: Dynamics of cadherin/catenin complex formation: novel protein interactions and pathways of complex assembly. *J Cell Biol* 125: 1327-1340, 1994
- 51) Hamaguchi M, Matsuyoshi N, Ohnishi Y, Gotoh B, Takeichi M, Nagai Y: p60<sup>v-src</sup> causes tyrosine phosphorylation and inactivation of the N-cadherin-catenin cell adhesion system. *EMBO J* 12: 307-314, 1993
- 52) Behrens J, Vakaet L, Friis R, Winterhager E, van Roy F, Mareel MM, Birchmeier W: Loss of epithelial differentiation and gain of invasiveness correlates with tyrosine phosphorylation of the E-cadherin/beta-catenin complex in cells transformed with a temperature-sensitive v-SRC gene. *J Cell Biol* 120: 757-766, 1993
- 53) Kanai Y, Ochiai A, Shibata T, Oyama T, Ushijima S, Akimoto S, Hirohashi S: c-erbB-2 gene product directly associates with beta-catenin and plakoglobin. *Biochem Biophys Res Commun* 208: 1067-1072, 1995
- 54) Hoschuetzky H, Aberle H, Kemler R:  $\beta$ -catenin mediates the interaction of the cadherin-catenin complex with epidermal growth factor receptor. *J Cell Biol* 127: 1375-1380, 1994
- 55) Hunter T: Oncoprotein networks. *Cell* 88: 333-346, 1997
- 56) Fagotto F, Funayama N, Gluck U, Gumbiner BM: Binding to cadherins antagonizes the signaling activity of beta-catenin during axis formation in *Xenopus*. *J Cell Biol* 132: 1105-1114, 1996
- 57) Behrens J, von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R, Birchmeier W: Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* 382: 638-642, 1996
- 58) Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Fiol C, Munemitsu S, Polakis P: Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* 272: 1023-1026, 1996
- 59) Molenaar M, van de Wetering M, Oosterwegel M, Peterson-Maduro J, Godsave S, Korinek V, Roose J, Destree O, Clevers H: XTcf-3 transcription factor mediates beta-catenin-induced axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* 86: 391-399, 1996
- 60) Papkoff J, Rubinfeld B, Schryver B, Polakis P: Wnt-1 regulates free pools of catenins and stabilizes APC-catenin complexes. *Mol Cell Biol* 16: 2128-2134, 1996
- 61) Hatta K, Takagi S, Fujisawa H, Takeichi M: Spatial and temporal expression pattern of N-cadherin cell adhesion molecules correlated with morphogenetic processes of chicken embryos. *Dev Biol* 120: 215-227, 1987
- 62) Detrick RJ, Dickey D, Kintner CR: The effects of N-cadherin misexpression on morphogenesis in

- Xenopus embryos. *Neuron* 4 : 493-506, 1990
- 63) Fujimori T, Miyatani S, Takeichi M : Ectopic expression of N-cadherin perturbs histogenesis in *Xenopus* embryos. *Development* 110 : 97-104, 1990
  - 64) Bronner-Fraser M, Wolf JJ, Murray BA : Effects of antibodies against N-cadherin and N-CAM on the cranial neural crest and neural tube. *Dev Biol* 153 : 291-301, 1992
  - 65) Inuzuka H, Redies C, Takeichi M : Differential expression of R- and N-cadherin in neural and mesodermal tissues during early chicken development. *Development* 113 : 959-967, 1991
  - 66) Heasman J, Crawford A, Goldstone K, Garner-Hamrick P, Gumbiner B, McCrea P, Kintner C, Yoshida-Noro C, Wylie C : Overexpression of cadherins and underexpression of  $\beta$ -catenin inhibit dorsal mesoderm induction in early *xenopus* embryos. *Cell* 79 : 791-803, 1994
  - 67) Kimura Y, Matsunami H, Inoue T, Shimamura K, Uchida N, Ueno T, Miyazaki T, Takeichi M : Cadherin-11 expressed in association with mesenchymal morphogenesis in the head, somite, and limb bud of early mouse embryos. *Dev Biol* 169 : 347-358, 1995
  - 68) Ranscht B : Cadherin cell adhesion molecules in vertebrate neural development. *Semin Neurosci* 3 : 285-296, 1991

(9. 4. 21 受稿)

---