

氏名 久保田 幸治  
 学位(専攻分野) 博士 (医学)  
 学位記番号 医博第2205号  
 学位授与の日付 平成12年3月23日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
 研究科・専攻 医学研究科分子医学系専攻  
 学位論文題目  $Ca^{++}$ -independent cell-adhesion activity of claudins, a family of integral membrane proteins localized at tight junctions  
 (タイトジャンクション膜タンパク質であるクローディンのカルシウム非依存的接着活性に関する解析)

論文調査委員 (主査) 教授 笹井芳樹 教授 清水 章 教授 月田承一郎

### 論文内容の要旨

タイトジャンクションは脊椎動物の上皮細胞や血管内皮細胞における細胞間の物質の漏れを防ぐ構造であり、超薄切片電子顕微鏡で観察すると細胞膜間が密着していることがわかる。このタイトジャンクションに局在する膜タンパク質として、我々はオクルディンとクローディンを同定していた。

クローディンは遺伝子ファミリーを構成しており、現在、17の遺伝子が単離されている。非上皮系培養細胞であるマウスL細胞においてクローディンを強制発現させるとタイトジャンクションに特有のストランドネットワークを形成することを我々は明らかにしていた。

上皮系細胞のタイトジャンクション近傍には細胞間接着装置であるアドヘレンスジャンクションが存在する。アドヘレンスジャンクションの細胞間接着分子カドヘリンはカルシウム依存性である。一般に、低濃度カルシウム培地で培養された上皮系細胞はアドヘレンスジャンクションとともにタイトジャンクションも消失する。

本研究では非上皮系培養細胞実験系を用い、クローディンの細胞間接着分子としての機能を解析した。まず、クローディン-1を強制発現させたマウスL細胞のみにキッキングポイントと呼ばれるタイトジャンクション特異的構造ができることを電子顕微鏡によって観察した。

次にクローディン-1, 2, 3をそれぞれ強制発現させた独立株を低濃度カルシウム培地で培養し、クローディンが細胞間に局在することを確認した後、細胞解離・再凝集実験系を用いて、細胞間接着活性を定量的に調べた。その結果、クローディンはマウスL細胞に強力な接着活性を付与し、この活性はカルシウム非存在下においても失われなかった。

オクルディンについても接着活性を同様の実験系を用いて調べたが、親株のL細胞に比べて大きく差が見られなかった。

以上の研究により、タイトジャンクションがカルシウム非依存性の細胞間接着装置であり、タイトジャンクションでの細胞間接着をクローディンファミリーが担っていることを示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

タイトジャンクションは脊椎動物の上皮細胞や血管内皮細胞における細胞間の物質の漏れを防ぐ構造であり、細胞の極性にも関与していると考えられている。このタイトジャンクションに局在する膜タンパク質として、オクルディンとクローディンが同定されていた。クローディンは遺伝子ファミリーを構成しており、現在、17の遺伝子が単離されている。

本研究では、クローディン-1, 2, 3をそれぞれ強制発現させた非上皮系培養細胞を用い、細胞解離・再凝集実験系により細胞間接着活性を定量的に調べた。その結果、クローディンはマウスL細胞に強力な接着活性を付与し、この活性はカルシウム非存在下においても失われなかった。オクルディンについても接着活性を同様の実験系を用いて調べたが、親株のL細胞

胞に比べて大きな差が見られなかった。

以上の研究により、タイトジャンクションがカルシウム非依存性の細胞間接着装置であり、タイトジャンクションでの細胞間接着をクローディンファミリーが担っていることが示唆された。本研究はタイトジャンクションの構造と機能の解明に貢献し、上皮細胞の極性形成やがん化の機構の理解に寄与すると考えられる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年1月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。