

京都大学	博士 (医学)	氏名	岩本 典子
論文題目	The E3 ubiquitin ligase LNX1p80 downregulates claudins from tight junctions in MDCK cells (E3 ユビキチンリガーゼ LNX1p80 はタイトジャンクションからクロードインを消失させる)		
(論文内容の要旨) タイトジャンクション (tight junction; TJ) は、上皮細胞の頂端側に位置する細胞間接着装置で、隣接する上皮細胞同士の隙間をシールすることによって上皮のバリア機能と透過性の制御に寄与している。細胞間接着装置は上皮細胞シートを形成する上で必須であるが、これは静的な構造ではなく、上皮細胞の動きや形態変化に伴って動的に再編成されている。例えば、発生過程での convergent extention や germ band extention における細胞の形態変化は細胞間接着の再編成を伴う。また、上皮細胞が細胞シート内で分裂、移動する際にも細胞間接着の再編成が必要となる。以前の研究により培養上皮細胞において TJ が再編成される際に、クロードインが選択的に細胞内に取り込まれ分解されるという観察がなされていた。このような動的過程においても TJ の連続性は常に保たれており、それによって上皮のバリア機能が維持されている。したがって分解と生成を含む TJ の再編成には巧妙な制御機構があると考えられるが、これまでのところその分子メカニズムは明らかでなかった。 本研究では、TJ の主な構成分子であるクロードイン-1 に結合する分子として、RING ドメインを持つ E3 ユビキチンリガーゼである Ligand-of-Numb Protein X 1 p80 (LNX1p80) を同定した。LNX1p80 を MDCK 細胞に過剰発現すると、TJ に局在するクロードインの量が著しく減少し、TJ が構造的、機能的に脆弱になっていることが明らかとなった。一方オクルディンの減少はわずかであり、裏打ちタンパク質の一つである ZO-1 には大きな変化が見られなかった。このことはクロードインが選択的に取り込まれた以前の観察と符号していると考えられた。また、クロードインは LNX1 により RING ドメイン依存的にユビキチン化され、RING ドメイン変異体ではクロードインの TJ からの消失はみられなかった。これによりクロードインを TJ から消失させることにユビキチン化が必要であることが示唆された。さらに、LNX1 によるクロードインのユビキチン化様式はポリユビキチン化であるが、プロテアソーム系でのタンパク質分解に用いられるユビキチンのリジン 48 を介したものではなかった。LNX1p80 は細胞内に取り込まれたクロードインとしばしば共局在し、それらは後期末ソーム、リソソームのマーカールを含んでいた。すなわちクロードインはエンドサイトーシスされた後リソソームにて分解されていると考えられた。以上の結果から、LNX1p80 はクロードインのユビキチン化、選択的なエンドサイトーシス、リソソームでの分解に関与しており、TJ の再編成がユビキチン化によって制御されていることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

上皮細胞の頂端側に位置する細胞間接着装置であるタイトジャクシオンは、細胞の運動や形態変化に伴って動的に再編成されている。その過程でタイトジャクシオンの主要な接着分子であるクロードインが細胞内にエンドサイトーシスされることが観察されていたが、その分子機構は明らかにされていない。本研究では、クロードイン1に結合する分子として、RING ドメインを持つ E3 ユビキチンリガーゼである LNX1p80 を同定した。

LNX1p80 をイヌ腎臓由来上皮細胞株である MDCK 細胞に過剰発現させると、タイトジャクシオンに局在するクロードインの量が著しく減少し、タイトジャクシオンが構造的、機能的に脆弱になっていることが明らかとなった。また、クロードインは LNX1p80 により RING ドメイン依存的にポリユビキチン化された。LNX1p80 は細胞内小胞に存在するクロードインと共局在し、その小胞は部分的に後期末ソーム、リソソームのマーカールを含んでいた。以上の結果より、LNX1p80 はクロードインのユビキチン化を介してタイトジャクシオンのエンドサイトーシス、リソソームでの分解に関与していることが示唆された。

以上の研究は、タイトジャクシオンの再編成におけるユビキチン化の重要性を示したものであり、細胞生物学 (細胞間接着の再編成の分子機構の解明) に寄与するところが大きい。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られる。

なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 2 月 16 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降