

氏名	みず の すぎはら ゆう こ 水野(杉原) 祐子
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3115号
学位授与の日付	平成19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	Molecular characterization of angiotensin/JEAP family proteins: interaction with MUPP1/Patj and their endogenous properties (angiotensin/JEAP ファミリー分子の MUPP1, Patj との結合性, 及び生化学 ・免疫組織学的解析)
論文調査委員	(主査) 教授 松田道行 教授 永田和宏 教授 瀬原淳子

論 文 内 容 の 要 旨

多細胞生物は上皮細胞に囲まれることにより、自己の内と外に区別される。単層の上皮細胞には、細胞間接着装置複合体と呼ばれる領域があり、その部分で隣り合う細胞が強く接着している。細胞間接着装置複合体は、タイトジャンクション(TJ)、アドヘレンスジャンクション(AJ)、デスモソーム(DS)からなる。その中で、TJは細胞間接着装置複合体の最も頂端側に位置し、細胞間を密着させ、細胞間隙を通しての物質の拡散を制御する選択透過性のバリア機能と、細胞膜を構成する脂質や膜タンパク質の拡散を防止し、極性を作り出すフェンス機能を果たしている。近年、TJの成分として、様々なタンパク質が同定され、TJがバリアやフェンスとしての機能だけでなく、細胞極性、タンパク質輸送、細胞増殖の制御など、多様な細胞の機能に関与することが示唆されている。TJに局在するタンパク質を同定し、それらの相互作用を解析することは、TJの分子構築や制御機構を解明する上で重要であると考えられ、TJの機能とその調節をより詳しく理解する為に、さらにTJに集積するタンパク質を単離、同定し、解析していく必要があると考えられる。

TJに局在する細胞質裏打ちタンパク質の一つであるMUPP1は、MREドメインと13のPDZドメインをもち、TJを構成するタンパク質の一つであるclaudin-1と結合することが報告されている。Yeast-Two-Hybrid法を用いることにより、このMUPP1と相互作用するタンパク質として、angiotensin(Amot)、JEAP/angiotensin-like 1、MASCOT/angiotensin-like 2が発見された。これら3つのタンパク質をまとめて、Amot/JEAPファミリーと述べる。

Amot/JEAPファミリーとMUPP1の結合には、Amot/JEAPファミリーのそれぞれC末にあるPDZ結合モチーフとMUPP1のPDZドメインが関わる。しかし、MUPP1は、Amot、MASCOTとはPDZ2、3で結合しているのに対し、JEAPとはPDZ3のみで結合していることが示された。さらに、Amot/JEAPファミリーの特異的な抗体を作成し、生化学・免疫組織学的解析が行われた。生化学的解析では、Amot/JEAPファミリーが膜タンパク質ではなく、裏打ちタンパク質であると示唆された。免疫組織学的解析では、Amot/JEAPファミリーは、上皮細胞において、いずれもTJと細胞の頂端に局在し、MUPP1との共局在が観察された。マウスの組織においてもAmot/JEAPファミリーはTJに局在したが、Amot、JEAP、MASCOTそれぞれが異なる組織分布を示した。そして、上皮細胞の強制発現系を用いた解析から、Amot/JEAPファミリーPDZ結合モチーフ欠損株のTJへの局在が観察された。また、MUPP1やPatjのドミナントネガティブがAmot/JEAPファミリーの局在に影響を与えないことが観察された。つまり、MUPP1やPatjとAmot/JEAPファミリーの結合が、Amot/JEAPファミリーの細胞内局在に必ずしも必要ではないことが示された。

Amotは血管内皮細胞移動や血管形成に関わると報告されている。血管内皮細胞におけるMUPP1やPatjの機能がまだはっきりとしていないことから、血管内皮細胞移動や血管形成におけるMUPP1とPatjの関わりを明らかにしていくことが重要であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

タイトジャンクション（TJ）と呼ばれる接着構造は、上皮細胞において細胞間を密着させ、バリア機能とフェンス機能を果たしている。本研究では、TJに局在するタンパク質を同定し、解析した。

Yeast-Two-Hybridを用いて、TJ局在の細胞質裏打ちタンパク質 MUPP1 と結合する angiomin (Amot), JEAP/angiomin-like 1, MASCOT/angiomin-like 2 を同定し、これらをまとめて Amot/JEAP ファミリーとした。

Amot/JEAP ファミリーと MUPP1 や Patj の結合には、Amot/JEAP ファミリー C 末の PDZ 結合モチーフが関わることを免疫沈降法で示した。Amot/JEAP ファミリー特異的抗体による生化学的解析では、Amot/JEAP ファミリーが膜タンパク質ではなく、裏打ちタンパク質だと示唆された。免疫組織学的解析を行うと、Amot/JEAP ファミリーは、上皮細胞において TJ と細胞頂端に局在し、MUPP1 と共局在した。マウス組織においても Amot/JEAP ファミリーは TJ に局在した。上皮細胞強制発現系による解析から、MUPP1 や Patj と Amot/JEAP ファミリーの結合が、Amot/JEAP ファミリーの局在に必ずしも必要ではないと示された。

以上の研究は TJ の構造と機能の解明に貢献し、基礎医学に寄与するところが多い。

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る。

なお、本学位授与申請者は、平成19年2月26日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。