

氏名	まつ だ み ほ 松 田 美 穂
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第 2700 号
学位授与の日付	平成 16 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	A peculiar internalization of claudins, tight junction-specific adhesion molecules, during the intercellular movement of epithelial cells (上皮細胞間運動におけるタイトジャンクション接着分子クローデインの細胞内取り込み機構)
論文調査委員	(主査) 教授 野間昭典 教授 武藤 誠 教授 月田承一郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

上皮細胞では隣接した細胞間に様々な細胞間接着装置が発達しており、Tight junction (TJ) はラテラル膜の最もアピカル側に存在する細胞間接着装置である。上皮細胞シートによって仕切られた2つの区画は、TJによって厳密にシールされている。本研究では、TJのダイナミックな動態を生きた細胞内で観察するために、TJの主要構成タンパク質である claudin と GFP のキメラタンパク質を作製し、claudin の細胞内への取り込み機構について解析を行った。

2つの細胞間の GFP-claudin ポジティブな TJ の長さは、細胞の動きに伴ってダイナミックに変化する。細胞の形の変化に伴って TJ が短くなると、claudin が頻繁に細胞内に取り込まれる様子が観察された。この現象をより詳細に解析すると、細胞は自らの細胞膜上の claudin だけではなく、隣り合った細胞膜上の claudin も一緒に細胞内に取り込んでいることがわかった。さらに電子顕微鏡を用いた観察から、TJ 特有の構造を保ったままどちらかの細胞質に取り込まれていると考えられる。この claudin 特有の細胞質への取り込み機構は、内在性の claudin においても観察された。また、形態変化のさかんな細胞ほど細胞内への取り込みが増加することがわかった。次に、他の TJ 構成要素である occludin, JAM, ZO-1 について claudin と同様の挙動を示すかどうか調べた。その結果、意外なことに occludin, JAM, ZO-1 は細胞質に取り込まれつつある claudin 小胞には含まれていなかった。よって、何らかのメカニズムにより claudin 以外の他の TJ 構成要素は、TJ ストランドのターンオーバーの際に排除されることがわかった。

以上の結果から、細胞の形態変化に伴って claudin が細胞質へ取り込まれることは TJ の remodeling に重要な役割を果たし、これらの制御によって TJ はダイナミックに変化する上皮細胞シート内の連続性を維持していると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

タイトジャンクション (TJ) は上皮細胞のラテラル膜の最もアピカル側に存在する細胞間接着装置である。上皮細胞シートによって仕切られた2つの区画は、TJによって厳密にシールされている。本研究では、TJの主要構成タンパク質であるクローデインと緑色蛍光タンパク質 (GFP) のキメラタンパク質を作製し、生細胞におけるクローデインの動態についての解析を行った。

2つの細胞間の TJ の長さは、細胞の動きに伴ってダイナミックに変化する。2つの細胞間の TJ が短くなると、クローデインが頻繁に細胞内にエンドサイトーシスされる様子が観察された。意外なことに、この現象をより詳細に解析すると、細胞は自らの細胞膜上のクローディングだけではなく、隣り合った細胞膜上のクローデインも一緒に細胞内に取り込んでいることがわかった。他の TJ 構成要素であるオクルデイン, JAM, ZO-1 はクローデインと挙動を共にしなかった。つまり TJ のターンオーバーの際にクローデインは選択的にエンドサイトーシスされることがわかった。これらのクローデインのエンドサイトーシスの制御によって、TJ はダイナミックに変化する上皮細胞シート内の連続性を維持していると考えられる。

以上の研究は、タイトジャンクションの構造と機能の解明に貢献にし、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16年1月23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。