

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/ANGPT family proteins : interaction with MUPP1/Patj and their endogenous properties (angiotensin/ANGPT 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先端側に位置し、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 と細胞の先端に局在し、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angiomotin（Amot）、JEAP/angiomotin-like 1、MASCOT/angiomotin-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。