

氏 名	森 田 和 政
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2122 号
学位授与の日付	平成 11 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands (タイトジャンクションを構成する4回膜貫通型蛋白質クローディン遺伝子ファミリー) (主査) 論文調査委員 教授 鍋島陽一 教授 鈴木康弘 教授 宮地良樹

論 文 内 容 の 要 旨

タイトジャンクションは、血管内皮、小腸上皮、腎臓尿細管、肝臓毛細胆管といった単層上皮において、隣り合った細胞同士の細胞膜を密着させる装置である。従って、タイトジャンクションは細胞間の物質の透過性を制御するバリアー機能を担う。また、タイトジャンクションは1個の細胞表面に全周性に存在する。それ故、タイトジャンクションは細胞膜のapical側とbasal側を隔て、膜蛋白質のapical面とbasal面との交通を制御するというフェンス機能を担う。

タイトジャンクションの膜タンパク質としてはオクルディンのみが以前より知られていた。しかし、オクルディン欠損ES細胞がよく発達したタイトジャンクションを形成することが報告され、オクルディンと異なる膜蛋白質の存在が示唆された。その後、タイトジャンクションの膜蛋白質としてクローディン-1、-2が同定された。

本研究においては、このクローディン-1、-2に相同性を有するマウス遺伝子を遺伝子データベースより6つ見だし、全長cDNAを単離した(マウスクローディン-3、-4、-5、-6、-7、-8)。Hydrophilicity Plotの結果、これらは全てクローディン-1、-2同様、4回膜貫通型の膜蛋白質と推測された。ノザンプロット法による、マウスでの臓器別の発現の検討の結果、クローディン-3、-4、-5、-7、-8のmRNA発現が、タイトジャンクションが発達した肝臓、腎臓、肺、精巣、大脳などで確認された。しかも、その発現様式は様々であった。(例えばクローディン-3は肺と肝臓に、クローディン-7は肺と腎臓によく発現していた。)。そして、Tagをつけたクローディン-3から-8をイヌ腎尿細管上皮細胞株であるMDCK細胞に強制発現させ、その局在をレーザー共焦点顕微鏡で観察したところ、全てオクルディンと局在が一致した。次に、マウスクローディン-3、-4、-8に対する特異的ポリクローナル抗体を作製した。これらを用いてマウス腎臓、肝臓で蛍光抗体法による観察を行った。その結果、クローディン-3、-4、-8はオクルディンと局在が一致した。さらに、免疫レプリカ電子顕微鏡による観察で、クローディン-3がマウス肝臓のタイトジャンクションに局在することを示した。以上の実験から、クローディン-3から-8はタイトジャンクションの膜蛋白質であることが証明され、また、タイトジャンクションを構成するクローディンが臓器により異なることが示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

タイトジャンクション (TJ) は、細胞間の物質の透過性を制御するバリアー機能と、膜蛋白質のapical面とbasal面との交通を制御するというフェンス機能を担う。TJの膜蛋白質としてはオクルディン (OC) のみが知られていたが、OC欠損ES細胞が発達したTJを形成することが報告され、OC以外のTJの膜蛋白質の存在が示唆された。その後、TJの膜蛋白質としてクローディン (CL) -1、-2が同定された。

本研究では、CL-1, -2に相同性を有するマウス遺伝子を遺伝子データベースより見だし、全長cDNAを単離した（CL-3, -4, -5, -6, -7, -8）。これらは4回膜貫通型であった。ノザンブロット法により、CL-3, -4, -5, -7, -8の臓器別mRNA発現が、様々な程度で観察された。（例えばCL-3は肺と肝臓に、CL-7は肺と腎臓によく発現していた。）。そして、TagをつけたCL-3から-8を犬腎尿細管上皮細胞株に強制発現させた結果、全てOCと局在が一致した。次に、CL-3, -4, -8の特異抗体を作製し、腎臓、肝臓での蛍光抗体法、肝臓での免疫レプリカ電子顕微鏡による観察を行い、CL-3, -4, -8がTJに局在することを示した。

以上の研究はタイトジャンクションの分子構造の解明に貢献し、タイトジャンクションの機能解析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11年2月10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。