

氏 名	おおにしひろえ 大西弘恵
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2813 号
学位授与の日付	平成 17 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	JACOP, a Novel Plaque Protein Localizing at the Apical Junctional Complex with Sequence Similarity to Cingulin. (JACOP, 接着複合体に局在する, シンギュリンに類似の配列を持つ新規裏打ちタンパク質)
論文調査委員	(主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 成 宮 周 教 授 光 山 正 雄

論 文 内 容 の 要 旨

多細胞生物の体は上皮細胞のシートによって外界と区別されており, 上皮細胞は細胞間接着装置と呼ばれる構造で隣の細胞と結合して, 強固な細胞のシートを形成している。細胞間接着装置には, 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) と呼ばれる接着構造が含まれており, TJ はこの細胞間接着装置の最も頂端側に位置している。TJ は, 細胞と細胞の周囲をシールし, 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としての機能と, 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としての機能を果たしている。TJ のバリア機能は一様ではなく, 各組織の生理学的性質によって異なり, さらに細胞内のシグナルによっても影響を受ける。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 に局在する細胞質裏打ちタンパク質の一つである cingulin は, coiled-coil 構造をもつ。MAGUK family タンパク質である ZO-1, ZO-2 等いくつかの TJ 局在タンパク質と結合することが報告されており, 一方で actin 繊維との結合も報告されている。このことは cingulin が TJ と actin 骨格との相互作用をになっていることを示唆しており, actin 骨格による TJ バリア機能の調節が推測される。このように, 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。

ニワトリの細胞間接着装置に局在する 155kD の細胞質内抗原 (P155) に対するモノクローナル抗体を用いて, マウスホモログの cDNA がクローニングされた。マウス P155 は coiled-coil domain を含む 148kD のポリペプチドをコードしており, cingulin とアミノ酸配列の相同性が見られた。このタンパク質は, その構造と局在から, JACOP (junction-associated coiled-coil protein) と名付けられた。免疫蛍光染色により, JACOP が様々なタイプの上皮細胞及び内皮細胞の接着複合体に濃縮していることが示された。さらに, 肝臓と腎臓では, 非接着部位のアクチン繊維への局在も観察された。さらに, 免疫電子顕微鏡法による詳細な観察から, JACOP が肝臓では TJ の裏打ち部分に局在しているが, 腎臓等いくつかの組織では, TJ のみにとどまらず AJ の裏打ち部分まで広く局在している像が観察された。また, 強制発現系を用いた解析から, JACOP は上皮細胞では接着複合体, 繊維芽細胞では細胞接着部位及びストレスファイバーへの局在が観察された。これらの結果は JACOP が接着複合体 (特に TJ) と, アクチン細胞骨格との相互作用になんらかの役割をもつことを示唆している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

上皮細胞の Junctional complex 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) と呼ばれる接着構造を含んでおり, 細胞間をシールし, 隣り合う細胞の細胞骨格を連結して上皮細胞シートに力学的強度を与えるという役

割を担っている。本研究では、junctional complex に局在する新規のタンパク質を単離、解析した。

junctional complex を認識するモノクローナル抗体を用い、その抗原タンパク質を精製、cDNA をクローニングし、JACOP と名付けた。JACOP は、TJ 局在タンパク質 cingulin と相同性が見られたが、免疫蛍光染色法によると、上皮だけでなく内皮細胞の細胞接着部位にも局在し、肝臓と腎臓では細胞接着部位以外のアクチン繊維にも局在することが示された。免疫電子顕微鏡法では JACOP が、肝臓では TJ の裏打ち部分に局在し、腎臓では、TJ から AJ の裏打ち部分にまで局在することが示された。強制発現系では、JACOP は上皮細胞では細胞接着部位、繊維芽細胞では細胞接着部位及びストレスファイバーに局在することが示された。これらの結果は、JACOP が接着複合体とアクチン細胞骨格との相互作用になんらかの役割を果たしていることを示唆している。

以上の研究は junctional complex 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17年1月21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。