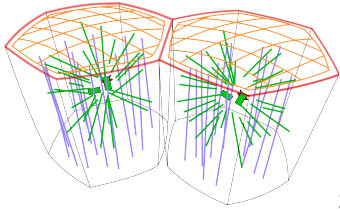


上皮細胞間接着装置タイトジャンクションを 起点とした生体機能システムの構築



研究室紹介

月田 早智子

Sophisticated role of the tight junction (TJ) in biological systems

Key Words : Epithelial cell, Tight junction, Apical membrane, Biological system, Claudin, Cilia, Cytoskeleton, Cell polarity

1 はじめに

多細胞生物における生体システムの構築には、多細胞が集団として得た多様なパラメーターが重要である。上皮細胞群は、生体内でその数が多いばかりではなく、多様な機能構築に関わることで注目される。上皮細胞の最大のミッションは細胞シートを形成することであるが、上皮細胞シート形成を基盤としてタイトジャンクション(TJ)が形成されたとき、上皮細胞間バリアーが確立する。それに伴い、細胞内・細胞間に構造的秩序が生まれ、その結果生体組織としての機能が創出される。

「上皮細胞」は文字通り、多細胞生物の体の表面を覆う細胞であり、そうした細胞が集まってできた構造物を「上皮組織」という。体をつくる主要な組織には、他に「神経組織」「筋組織」「結合組織」があり、これらを合わせて、4大組織と定義している。多細胞生物のいずれの部位も、4大組織により構成される。上皮組織は生体内コンパートメントを形成することにより、多細胞生物の生体機能を創出しつつ、その分業化、高度化をつかさどり、同時にその統合をも行う。

一方で、上皮細胞シートは、単一細胞・細胞集団という縦断的視点に根ざした解析が非常に有効な系としても注目される。複数の細胞が機能

的な細胞集団となるために必須な要素に着目した解析を行える系といえる。上皮細胞シートがタイトジャンクション(TJ)により互いに強く接着するとき、物理的空間としてのコンパートメントを作るだけでなく、イオンや物質の選択的透過、チャネルや受容体の局在化等を通して、機能的空間としての微小環境が創出される(図1)。同時に、個々の細胞内においてもシグナルや細胞骨格の変化等が引き起こされ、生体各部位の高度な機能が獲得される。

私共の研究室では、TJを起点とした高次生体機能構築について、分子・遺伝子レベルから個体レベルまでの解析を行い、その機能システムの動作原理を統合的に理解することを目指している。タ

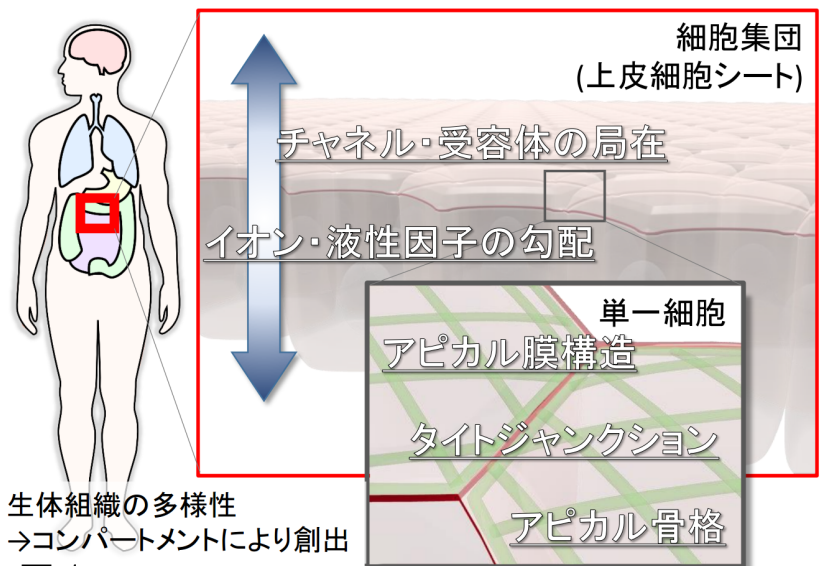


図 1

イトジャンクション (TJ) 接着分子クローディン研究と、TJ 発のアピカル膜・骨格構造構築の研究という 2 つの方向からの研究を推進している (図 2)。

2 研究内容

微小環境の異常は、がん、炎症、自己免疫疾患、代謝異常など多種の病態の原因になることが知られており、多くの研究が行われている。こうした知見に加え、生物の有する高度な生体機能を、多様な微小環境が協調的に働いた結果生じるものとして捉えることで、これまで明らかにされなかった発生・分化、病態形成における様々な命題に新たな解釈を与えることが出来る。

(1) タイトジャンクション (TJ) 接着分子クローディン研究

私共ではこれまで、TJ の単離精製法を確立し (Tsukita & Tsukita, *J. Cell Biol.*1989)、多くの新規 TJ 構成分子を同定してきた。それらの解析を進行するなかで、クローディンを含む TJ 構成分子が細胞間バリアー蛋白質として、上皮細胞シートの透過性を規定することで、微小環境構築における重要な役割を担うことが明らかになった (Umeda et al., *Cell* 2006; Yamazaki et al., *Mol. Biol. Cell* 2008, 2011, etc.)。TJ の主要分子であり 27 種類のサブタイプをもつクローディンは、臓器毎に異なる発現パターンを持ち、最適な細胞間バリアー機能とそれに伴う細胞間選択的透過性を作り出している。

・分子・遺伝子・細胞生物学レベルでの研究 :

ごく最近、藤吉研(名古屋大学)との共同でクローディンの構造を解く事ができ、細胞間バリアー蛋白質としてのクローディンの機能解析について関心がますます高まる場所である。細胞間バリアー形成や選択的透過性の構造的基盤について、各種クローディンおよびその変異体の発現細胞について検討をすすめている。クローディンの機

能について分子細胞生物学的所見が発展することが期待される(図 3)。

・個体レベルでの研究 :

個体レベルでの解析においては、主にノックアウトマウスを用いた解析から、細胞間バリアーを構築する TJ クローディン、細胞間チャンネルを構築する TJ クローディンについて、生体機能制御機構の検討を行っている。

細胞間バリアーを構築する TJ クローディン:

上皮細胞がシートを構築することをミッションとする意義は、皮膚の上皮細胞シートを想起すると理解しやすい。皮膚は、上皮細胞が幾重にも重なった重層上皮組織という組織構造をつくる。最上部に近い上皮細胞間に、タイトジャンクションが構築される。多細胞生物の外表面をおおう皮膚の上皮細胞シートがつくるバリアーは特別に重要である。しかし、外界に直接接する皮膚ばかりが問題ではない。大腸

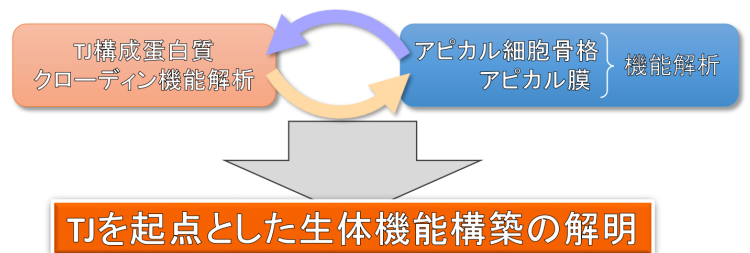


図 2

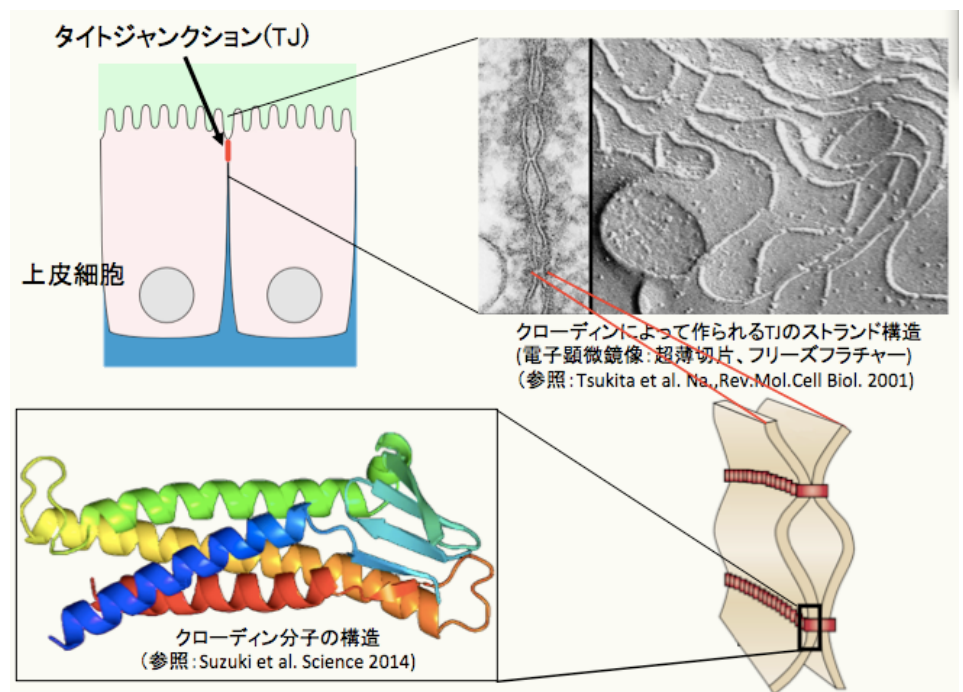


図 3

には通常は常在菌とはいえ、細菌が定着している。もし、バリアーが崩壊すれば、免疫系がはたらき、炎症が生じる。胃では、胃酸が分泌され、バリアーがなければ、粘膜下が酸性になり、化学的な障害を生じる。膵液でも同じである。

＜バリアー機能不全の例としての、クローディン18ノックアウトマウス＞

クローディン18胃型ノックアウトマウスでは、プロトンを含むカチオンへの透過性が亢進し、壁細胞が胃酸の分泌を開始する生後4日頃より、IL-1βなどの炎症性サイトカインの発現が亢進してくる。その後、壁細胞や主細胞の数の減少をともなう萎縮性胃炎へと進む。分化マーカーを用いた解析から、SPEM細胞の出現した化生性の変化を認めた。本マウスでは、TNF-αやPGE-2の発現も亢進し、クローディンによる癌化の期待がもたれる(Hayashi et al., *Gastroenterology* 2012, etc.) (図4)。

細胞間チャンネルを構築する TJ クローディン:

上述のようにタイトジャンクションのバリアー機能の重要性が知られる一方で、特定のイオンや溶質を透過させる permselectivity の重要性についても知られる。チャンネルを構築するクローディンとして、クローディン2、15などが知られる。チャンネル型のクローディンについて、図のようなポアモデルが示されているが、その詳細の理解には構造解析の進展をまつ必要がある。

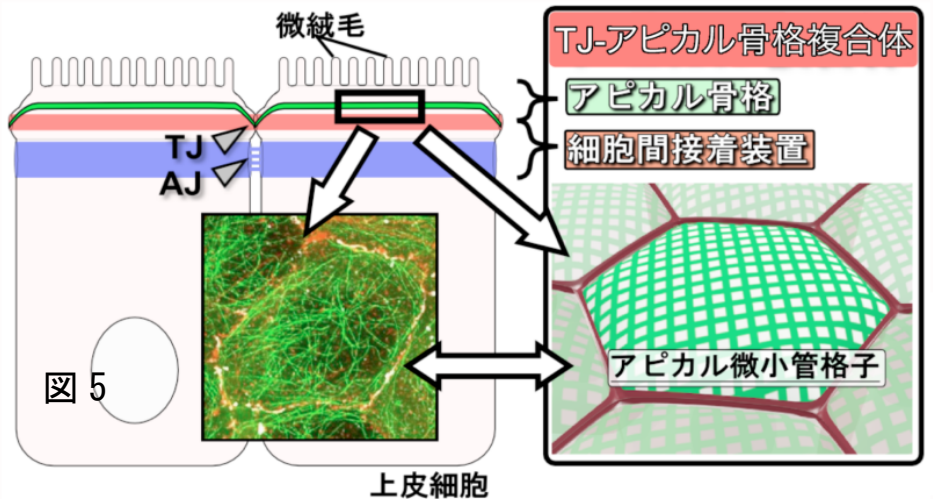
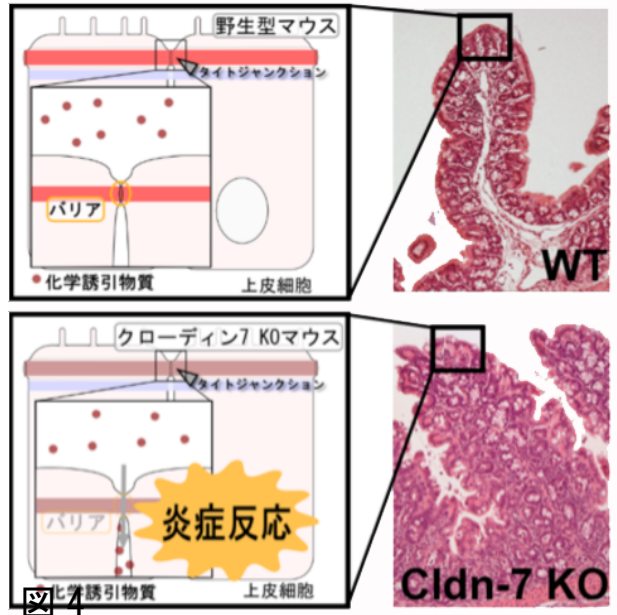
＜細胞間チャンネル機能不全の例としての、クローディン 2、15ダブルノックアウトマウス＞

細胞間チャンネルを構築するクローディン2と15は、腸管で多く発現する。この両者のダブルノックアウトマウスでは、細胞間のイオン透過性が低下し、その結果、粘膜下から腸管内腔に供給されるナトリウムイオンが低下、腸管内のナトリウムイオン濃度が激減する。その結果、腸管内ナトリウム依存性の

3大栄養素の吸収(ナトリウム依存性のグルコース吸収の低下、ナトリウム依存性のアミノ酸吸収の低下、ナトリウム依存性の胆汁酸の吸収低下を介した脂質の吸収低下)が阻害され、マウスは離乳前に致死にいたることが示された(Wada et al., *Gastroenterology* 2013, etc.)。

(2) TJ 発のアピカル膜・骨格構造構築の研究

生体において、TJの変異がアピカル膜に存在するレセプターやチャネルの機能異常につながり、各種がんや、糖尿病、多発性嚢胞腎などの病態の原因となる可能性が知られている。こうした事実を踏まえ、TJにより規定されるアピカル膜・骨格構造をTJと共に、「TJ・アピカル複合体」というシステムとして捉え、正常な微小環境の確立、更には微小環境の集合体としての生体の恒常性維持、



細胞長軸にそって配列する微小管とも異なる、微小管の細胞内構築と繊毛の配置等のアピカル構造の基盤をなす。加えて、この「TJ・アピカル微小管格子」の付近にはアクチン線維・10nm 線維もそれぞれ層状に分布し、TJ 欠失細胞において、それぞれが構造的規則性を失うことを示唆するデータも得られている。これらの新しい構造を「TJ・アピカル骨格3層構造」とし、そのダイナミクスについて高解像ライブイメージングで解析することも試行しつつ、その生体機能構築上での役割についての問題解決に向けて、新たな挑戦をできたく計画を進行している。

3 おわりに

本稿では、特に最近の研究内容に重点をおいて研究内容を紹介した。まずは「よく視てよく考える」をモットーにして、「ゼロをイチにするような、手作りの研究」を目指したいと考えている。

医学・生物学分野での基礎研究の研究室内では、各自が自由な思考で研究を進める一方で、研究室内外の研究仲間と、経歴や年齢などのバリアフリーの関係で共に研究を構築でき、最先端研究にも斬り込んでいくことができれば、と日夜取り組んでいるところである。サイエンスについて語る議論も大切にしており、ひととの出会い、論文・著書などでの考えかたとの出会いが大切であることを実感するこのごろである。

研究室 HP :

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/tsukita/>