



Title	Differential Expression Patterns of Claudins, Tight Junction Membrane Proteins, in Mouse Nephron Segments
Author(s)	西信, 裕美子
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43914
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	西信裕美子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第17682号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Differential Expression Patterns of Claudins, Tight Junction Membrane Proteins, in Mouse Nephron Segments (マウス腎臓におけるタイトジャンクション膜蛋白クローディンの発現様式)
論文審査委員	(主査) 教授 田野 保雄 (副査) 教授 内山 安男 教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

[目的]

多細胞生物では隣りあう細胞の細胞膜を密着させてシールするという細胞間接着構造、タイトジャンクション(以下 TJ)が発達している。TJストランドを構成する内在性膜蛋白質として、4回膜貫通型蛋白質型であるオクルディンとクローディンが同定された。クローディンは遺伝子ファミリーを形成しており現在まで 20 種類以上のサブタイプが同定されている。上皮の種類により発現するクローディンの種類と組み合わせは異なり、多くの組織において複数のクローディンが 1 つの細胞に同時に発現している。また TJストランドを構成するクローディンの種類と組み合せが変わることにより TJ のタイトさが異なることも報告されている。

腎臓は無数のネフロンから構成されており、ネフロンは糸球体、近位尿細管、ヘンレの下行脚、上行脚、遠位尿細管、集合管のセグメントに分かれている。

それぞれのセグメントでは上皮細胞の形態や物質の再吸収および尿の濃縮課程における機能が異なり、TJ のバリア機能もセグメントごとに異なっている。そこでネフロンの各セグメントにおける TJ の機能を理解するために腎臓の各セグメントの上皮細胞におけるクローディンの具体的な発現分布を詳細に検討した。

[方法ならびに成績]

まず初めにノサンプロット法でマウス腎臓においてクローディン 1 から 16 の中のどのサブタイプが発現しているのかを確認した。その結果クローディン 6、9、13、14 はその発現が見られなかつたが、それ以外のクローディンはマウス腎臓に発現していた。

次に腎臓のどの部分に発現しているのかを蛍光抗体法を用いて調べた。蛍光抗体法に用いるクローディンの各サブタイプに対する特異的抗体は、これまでに報告されているものを使用し、その他に今回新たにクローディン 7、10、12、15、16 について作成した。このうちクローディン 10、15、16 については蛍光染色をするために適した抗体を得ることができた。クローディン 7、12 以外の各サブタイプに対する特異的抗体を得たクローディンについてネフロンにおける発現分布を蛍光抗体法を用いて検討した。

マウス腎臓の連続した凍結切片をクローディンの各サブタイプに対する抗体またはセグメントのマーカーとなる抗体で染色し、その発現分布を比較した。その結果、クローディンはセグメントごとに異なる組み合わせで発現していた。すなわち、ボーマン嚢にクローディン1と2、近位尿細管にクローディン2、10、11、ヘンレの下行脚にクローディン2、ヘンレの上行脚の細い部分にクローディン3、4、8、ヘンレの上行脚の太い部分にクローディン3、10、11、16、遠位尿細管にクローディン3と8、集合管にクローディン3、4、8の発現をみた。クローディン5および15は血管内皮細胞に発現していた。

[総括]

マウス腎臓のネフロンにおけるクローディンの発現分布を組織免疫学的に検討したところ、セグメントごとに異なるクローディンが発現していた。この結果から、生体において発現するクローディンの種類や組み合わせの違いがTJのイオン透過性に違いをもたらしている可能性が強く示唆された。

常染色体劣性遺伝形式をとる低マグネシウム血症で、その原因遺伝子がヘンレの上行脚の太い部分に発現しているクローディン16（パラセリン1）の変異によることが明らかにされるなど、近年クローディン遺伝子の変異といくつかのヒトの疾患が関わっていることが報告されている。

今回の結果はネフロンにおける各セグメントの生理的な機能を理解するために役に立つばかりでなく、腎臓においてTJでの異常により引き起こされると予想される病理学的な変化やヒトの疾患を解明することにも貢献すると思われる。

論文審査の結果の要旨

多細胞生物では隣り合う細胞の細胞膜を密着させてシールするという細胞間接着装置、タイトジャンクション（以下TJ）が発達している。一方で、このTJを横切って物質が細胞と細胞の間（paracellular pathway）を通過することも知られている。近年TJストランドを構成する内在性膜蛋白質として4回膜貫通型蛋白質であるクローディンが同定された。クローディンは現在まで20種類以上のサブタイプが同定されていて、上皮の種類により発現するクローディンの種類と組合せが異なり、その種類と組合せが変わることによりTJのタイトさが異なることがあることも報告されている。TJは眼科領域においても角膜の透明性の維持や網膜の機能維持に重要な役割を果たしている。

本論文では、ひとつのネフロン内で異なる組織像と機能を持つ腎臓を取り上げ、マウス腎臓においてTJ膜蛋白質クローディンの発現様式を詳細に検討している。

まずノサンプロット法にてマウス腎臓に発現するクローディンを確認した。その結果クローディン1から16までの内、クローディン6、9、13、14以外のクローディンがマウス腎臓に発現していた。次に腎臓の尿細管を6つのセグメントに分け、どの種類のクローディンが発現しているのかを蛍光抗体法により検討した。マウス腎臓の凍結切片を一方はクローディンの各サブタイプに対する抗体で、もう一方はセグメントのマーカーとなる抗体で染色し、その発現分布を比較した。その結果ボーマン嚢にクローディン1と2、近位尿細管にクローディン2、10、11、ヘンレの下行脚にクローディン2、ヘンレの上行脚の細い部分にクローディン3、4、8、ヘンレの上行脚の太い部分にクローディン3、10、11、16、遠位尿細管にクローディン3と8、集合管にクローディン3、4、8が発現していた。すなわちクローディンはセグメントごとに異なる組み合わせで発現していた。

paracellular pathwayにおける物質輸送のメカニズムはまだ不明な点も多い。今回の結果から生体においてクローディンの発現の組合せの違いがTJにおけるイオンなどの物質の透過性に違いをもたらしている可能性が強く示唆された。さらに、今回の研究で得られた結果は、腎臓の生理的な機能を理解するために役立つばかりでなく、腎臓においてTJでの異常により引き起こされると予想される病理学的な変化やヒトの疾患を解明することにも貢献するものとして、本論文は学位に値すると考える。