

Title	Claudins, the tight junction membrane proteins, participate in lumen formation by regulating apical membrane biogenesis
Author(s)	橋爪, 篤史
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45630">https://hdl.handle.net/11094/45630</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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 はし づめ あつ し  
橋 爪 篤 史

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 1 9 2 2 3 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

理学研究科生物科学専攻

学 位 論 文 名 Claudins, the tight junction membrane proteins, participate in lumen formation by regulating apical membrane biogenesis  
(タイトジャンクション分子 claudins は上皮細胞膜の頂上面形成を制御することで管腔形成に関与している)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 西田 宏記

(副査)

教 授 常木和日子 教 授 小倉 明彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

動物の器官における上皮組織の大部分は内部の管腔を取り囲んだチューブ状の構造をしている。チューブの壁は頂上面一側底面極性をもった上皮細胞によって構成されており、セキツイ動物では上皮細胞膜の頂上面と側底面はタイトジャンクション (TJ) によって区切られている。チューブ形成には様々な様式が採用されている。唾液腺をはじめとするいくつかの器官では、上皮組織はまず初めに管腔が存在しない細胞塊として生じる。細胞塊中の上皮細胞は TJ を失っており、明確な細胞膜領域を持たない。その後、細胞塊中に新たに管腔が形成される。それに伴い、TJ は新たに形成され、TJ によって区切られたふたつの異なる細胞膜領域が出現する。しかし、TJ 形成が細胞極性および上皮チューブの形成へどのように貢献しているのかは不明である。本研究では、マウス胎仔唾液腺をモデル系として TJ の構造に必須な claudin ファミリー分子が上皮チューブ形成に果たす役割を調べた。TJ に局在する claudin の種類を明らかにするために、管腔形成後の発生後期の唾液腺 (胎齢 16 日目および新生仔) における claudin ファミリー分子の発現を RT-PCR、ウェスタンブロット、および免疫組織染色によって解析した。その結果、claudin-3~8、-10、-11 の少なくとも 8 種類の claudin ファミリー分子が TJ に局在していることが明らかとなった。管腔が出現する前後のステージ (胎齢 11 日目、13 日目、14 日目) の唾液腺上皮を対象にして、TJ 分子である claudin-3~8、occludin および ZO-1 の発現および局在を免疫組織染色によって観察した。その結果、(1) TJ 分子の発現は上皮細胞塊中で管腔形成に先立って始まること、(2) TJ 分子は ZO-1/cadherin 複合体→ZO-1/occludin→ZO-1/occluding/claudins の順番で集積することが明らかとなった。Claudin ファミリー分子が上皮チューブの形成に果たす役割を調べるために、いくつかの claudin ファミリー分子に特異的に結合し、TJ から除く働きがある腸内細菌毒素断片 (C-CPE) をもちいて唾液腺を培養した。C-CPE 存在下で培養した唾液腺の上皮組織では、隣接している頂上面膜の分離が妨げられており、明確な管腔は観察されなかった。Claudin ファミリー分子が機能的な頂上面の形成に関与するのか調べるために、頂上面マーカー分子 (AQP-5、NHE3) と側底面のマーカー分子 (NECC1、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase) の発現と局在をそれぞれ調べた。C-CPE 存在下では、側底面マーカー分子は正確に側底面に局在していたのだが、AQP-5 は細胞表面全体に拡散しており、NHE3 の発現は検出されなかった。これらの結果から、claudin ファミリー分子を含んだ TJ の形成は機能的な頂上面の形成を制御することによって管腔形成に寄与していることが示唆される。唾液腺の発生には数

多くのシグナル分子が関与しているのだが、チューブ形成の制御因子は知られていない。SHH ノックアウトマウスでは、唾液腺の発生は遅れ、明確な管腔は出現しない。そこで、SHH シグナリングが管腔形成の制御因子であるのかを調べるために、SHH ペプチド存在下で唾液腺を培養した。SHH ペプチドは管腔形成、TJ 形成、および頂上面形成を促進した。この結果から、HH シグナリングはチューブ形成の全体を促進することが示唆される。

#### 論文審査の結果の要旨

橋爪篤史君は、上皮組織における物質拡散のバリアであるタイトジャンクションの構成分子クローディンファミリー分子が唾液腺上皮組織の管腔構造形成に関与していることを示した。また、そのクローディンによる管腔形成制御が、バリア機能を介してではなく、機能的なアピカル膜の形成を制御する機構による可能性を示した。さらに、ヘッジホッグを介したシグナル機構がタイトジャンクションおよび上皮管腔構造の形成を促進することを示した。これらの成果は、上皮管腔構造の形成機構およびタイトジャンクションの細胞生物学的意義の研究に新たな視点を提供するものであり、博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。