

## 6. 上皮構造とバリア機能の調節に関わる因子の同定と解析

生化学

伊藤雅彦, 杉本博之

【目的】本研究は、細胞間接着装置の一つ Tight junction (TJ) に着目し、上皮構造・バリア機能を制御する分子基盤の全容を解き明かすことが目的である。上皮細胞間の最頂端部に位置する TJ は、上皮組織の形成ならびに身体の内と外を隔て生体内環境を維持する上で必須の存在である。TJ 分子の異常に起因する接着・極性の喪失は上皮の癌化・転移に直結し、またウイルス・細菌の細胞感染と増殖に際して TJ 分子が標的となることが近年明らかにされており、TJ に焦点を当てた本研究は、基礎医学生物学のみならず臨床医学の見地からも意義を有するものである。

【方法】TJ 分子のうち細胞膜直下に局在する ZO-1 は、接着分子やシグナル分子を局所に集積させるいわば landmark となり、さらにはアクチン細胞骨格と結合して上皮特有の細胞周縁を取り囲むアクチン構造形成に寄与する。しかし、こうした ZO-1 による TJ- アクチン細胞骨格の空間配置情報がどのように細胞内に伝搬・変換され、上皮としての構造・機能の呈示に結びつくのか詳しいメカニズムは不明であった。そこで ZO-1 と協調して働く調節分子経路を見出すため、yeast two-hybrid 法を用いて新規 ZO-1 結合分子の同定を試みた。ZO-1 を bait としてマウス胚由来 prey cDNA library をスクリーニングし、陽性となった分子について生化学的解析および発現抑制によって生じる上皮構造・機能への影響などについて検討を行った。

【結果】スクリーニングの結果、Rho を活性化する GEF 分子の一つ ARHGEF11 が単離され、ZO-1 の C 末端部分に直接結合することが明らかとなった。ARHGEF11 は上皮組織細胞の TJ 部位に局在を示したが、その局在化には ZO-1 の発現が必要不可欠であった。また、培養上皮細胞において ARHGEF11 の発現を抑制したところ、TJ ならびに上皮特有アクチン細胞骨格の形成に遅延を生じ、さらにはバリア機能の低下を招くことを見出した。加えて、分子レベルにおける変化としてミオシン軽鎖の活性低下が起きることが判明した。

【考察】上述の結果から、ARHGEF11 が ZO-1 に結合することで細胞間接着部位に局在化し、局所においてミオシン軽鎖の活性化を誘導することが、上皮特有の TJ- アクチン細胞骨格の構築ならびにバリア機能の呈示に結びつくことが示唆された。

【結論】上皮構造・バリア機能の制御分子基盤の一端として ZO-1・ARHGEF11 経路の存在を証明することが出来た。本研究をさらに発展させることによって、上皮に関わる様々な疾患の発症機構ならびに治療戦略の探求に貢献したいと考える。

## 7. ラット小腸の阻血再灌流障害に対するクラリスロマイシンの抗炎症作用の検討

獨協医科大学越谷病院小児外科

畑中政博, 田原和典, 五十嵐昭宏, 藤野順子, 鈴木 信, 石丸由紀, 池田 均

獨協医科大学 病理部 (人体分子)

富田茂樹

【目的】抗菌薬として臨床的に広く用いられているクラリスロマイシン (CAM) は、本来の抗菌作用の他に消化管運動亢進作用、抗炎症作用、抗酸化作用があることが最近の研究によって明らかになってきた。今回、ラット小腸阻血再灌流 (I/R) モデルを用い、I/R 傷害小腸に対する CAM の抗炎症作用について検討した。

【方法】Wister rat ♂ (250~390g) を用い、上腸間膜動脈をクランプ (30分) する阻血再灌流手術 (I/R) を行った。CAM (40 mg / kg / day, 1日1回経口投与) を用い、各群 (A 群: control, B 群: I/R のみ, C 群: CAM 術前3日間投与 + I/R, D 群: I/R + CAM 術後5日間投与, E 群: CAM 術前後投与 + I/R; 各群: n=5) について、I/R 終了後5日目の血清及び傷害小腸を採取し、小腸組織 (H.E) の炎症性反応 (炎症性細胞浸潤, 出血, リンパ濾胞の有無) について組織学的に調べ、さらに炎症ダメージをスコア化し評価比較検討した。また、炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) を測定し、各群の比較検討を行った。

【結果】傷害小腸の組織は、CAM 術前投与のみの C 群では粘膜の絨毛構造が比較的良好に保たれていたが、CAM 術後投与が行われた D 群 E 群でほぼ全例に2次性リンパ濾胞の形成が認められた。炎症ダメージのスコア化では有意な差はなかった。組織中のサイトカインは各群での発現において有意な差はなかった。

【考察・結論】C 群の傷害小腸組織において、粘膜層が比較的良好に保たれていることから、CAM による抗炎症作用が生じた可能性が示唆された。しかし、CAM 術後投与群 (D, E 群) において2次性リンパ濾胞の出現や炎症性細胞浸潤の増加がみられたことから、CAM の術後投与を原因する炎症反応増強の可能性も示唆された。今後は、CAM による抗炎症作用について、組織における炎症性因子の局在と動態について検討をすすめる。